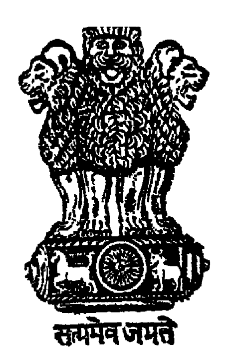

सत्यमेव जयते

Zentralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

meine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakterio- und Mykologie, Protozoologie, Pflanzenkrankheiten (einschließlich durch Viren hervorgerufenen) und Pflanzenschutz sowie Tier- ıeiten (ausschließlich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

herausgegeben von

Ob r.egierungsrat Dr. C. Stapp
Berlin-Dahlem, Königin-Lu se-Str. 17/19

104. Band

Mit 147 Abbildungen im Text



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1941/42

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 1.
Ausgegeben am 28. Juli 1941.

Ein einfaches Zählverfahren zur Titerbestimmung in flüssigen Nährböden.

[Aus der Staatlichen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Wien, Kommissarischer Leiter: Oberregierungsrat Dr. Adolf Schugowitsch. Abteilung für Hygiene und Bakteriologie, Vorstand: Dr. med. W. Lorenz.]

Von **Wilhelm Lorenz.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Im bakteriologischen Schrifttum sind eine ganze Reihe von mathematischen Auswertungsverfahren angegeben, die es ermöglichen sollen, auch bei Kultur in Nährlösungen eine einigermaßen gesicherte Mengenbestimmung der eingesäten Keime vorzunehmen. Bisher konnte sich jedoch keines allgemeiner durchsetzen, und es sind dort, wo Mengenschätzungen von Bakterien in Nährlösungen vorgenommen werden müssen, wie z. B. bei der Colibestimmung im Trinkwasser, ganz unzulängliche Verdünnungsreihen als sog. Titerverfahren in Verwendung. Der Hauptgrund hierfür ist wohl das an sich geringe Vertrauen, welches man auch heute noch der bakteriologischen Keimzahlbestimmung hinsichtlich ihrer Genauigkeit entgegenbringt. Nun ist es sicherlich eine unbestreitbare Tatsache, daß alle indirekten Keimzahlbestimmungen von der Art des verwendeten Nährbodens und insbesondere von der angewandten Bebrütungstemperatur abhängig sind. Dazu kommt noch, daß bei der Verwendung sehr dichter Bakterienaufschwemmungen zur Keimzählung fehlerhafte Ergebnisse durch Wachstumshemmungen zwischen den zu dicht liegenden Kolonien auftreten und andererseits bei ausreichender Verdünnung sich während des Durchmischens der einzelnen Verdünnungsstufen Bakterienverbände in unkontrollierbarer Weise auflösen und daher mit zunehmendem Verdünnungsgrad ein Ansteigen des Keimgehaltes wahrzunehmen ist.

Alle diese Schwierigkeiten lassen sich aber durch sorgfältiges Anpassen der Untersuchungstechnik an den erstrebten Zweck und entsprechende Berücksichtigung der für den gegebenen Fall günstigsten Umstände in erträglichen Grenzen halten, wie langjährige eigene Erfahrung zeigte. Sogar mit ganz grundverschiedenen Zählmethoden konnten durchaus vergleichbare Werte gefunden werden, wie zum Beispiel bei Keimzahlbestimmungen in Kindermilch mit Hilfe von Fleischwasser-Agarplatten bei einer zweitägigen Bebrütung bei 37° C und mit Hilfe von Mikroplatten, die durch Vermischen von 0,1 ccm der zu untersuchenden Kindermilch mit 0,1 ccm Nähragar auf einem Objektträger hergestellt, nach 20stünd. Bebrütung bei 30° C unter dem Mikroskop ausgezählt worden waren (1). Ebenso konnte bei der Überprüfung von Marktmilch mit der eben erwähnten Mikroplattenmethode eine für die praktischen

Bedürfnisse in jeder Hinsicht ausreichende Übereinstimmung mit der allgemein üblichen Methode unter Verwendung von Chinablau-Milchzucker-Agarplatten festgestellt werden (2).

Es sind somit keinesfalls die heute üblichen Keimzählungsmethoden als solche ungenau, sondern die ungenauen oder schlecht vergleichbaren Ergebnisse entstehen meist erst durch ihre unzweckmäßige Anwendung.

Ein zweiter Grund für die Ablehnung der bisher veröffentlichten Auswertungsverfahren für Titerbestimmungen liegt wohl darin, daß die Verläßlichkeit und Richtigkeit der in den Auswertungstabellen angeführten Zahlen von dem Untersucher einfach hingenommen werden mußte, weil ihre Ableitung und der strenge Beweis ihrer Gültigkeit für den in Aussicht genommenen Zweck dem mathematischen Laien nicht verständlich gemacht werden konnte. Gestützt auf eine mehr als zehnjährige Erfahrung mit einem an der Wiener Staatlichen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel und im hygienischen Institut der Universität Wien angewandten Zählverfahren für den Gärungserregergehalt des Trinkwassers sei hier der Versuch unternommen, die Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit exakter mathematischer Verfahren für die Auswertung der Titerbestimmungen zu erweisen.

Bereits im Jahre 1919 veröffentlichte E. Krombholz sein Hälftungsverfahren (3) zur Colibestimmung in Trinkwasser. Die mathematische Behandlung dieser sonst einfachen und mit wenig Material- und Arbeitsaufwand durchzuführenden Methode stieß aber auf dem damals eingeschlagenen Wege auf große Schwierigkeiten und konnte nicht in exakter Weise zum Abschluß gebracht werden. Es wurde dann im Jahre 1929 von E. Krombholz und dem Verf. ein auf einer Zehnerteilung beruhendes Zählverfahren (4) ausgearbeitet, das sich mit den einfachsten Grundbegriffen der Wahrscheinlichkeitsrechnung, wie sie in den Mittelschulen gelehrt werden, exakt durchrechnen ließ. Es war daher zu hoffen, daß es infolge seiner leichten Übersichtlichkeit auch weitere Kreise der Fachbakteriologen für die mathematische Behandlung des Keimzählungsproblems gewinnen werde. Seine praktische Durchführung ergab eine ausgezeichnete Zählgenauigkeit, doch war der verhältnismäßig große Materialverbrauch etwas hinderlich, da mit einer Zählreihe von 10 gleichbemessenen Parallelkulturen nur 1—22 Keime zahlenmäßig erfaßt werden konnten. Für eine normale Wasseruntersuchung mußten daher drei Zählreihen zu je 10 Parallelkulturen angelegt werden, von denen die erste 50, die zweite 5 und die letzte 0,5 ccm Wasser enthielt.

Um nun in der Kriegszeit an Material und Arbeit zu sparen, wurde der Versuch unternommen, auf den gleichen Grundlagen aufbauend ein einfacher durchzuführendes Zählverfahren etwa auf Grund einer Drittelung, Viertelung oder Fünftelung auszuarbeiten. Denn die Möglichkeit einer zahlenmäßigen Erfassung des Gärungserregergehaltes in größeren Wassermengen (etwa 50—200 ccm) hatte sich für die Wasserbeurteilung als sehr vorteilhaft erwiesen und sollte unter allen Umständen beibehalten bleiben.

Im folgenden sollen nun die neuen Zählverfahren, die bereits in mehrmonatiger Erprobung ihre praktische Brauchbarkeit erwiesen haben, kurz beschrieben werden. Da die mathematische Ableitung der Verfahren ganz analog dem von E. Krombholz und dem Verf. veröffentlichten Zehnerverfahren (4) ist, darf wohl hinsichtlich des strengen Beweises der rechnerischen Richtigkeit auf die damalige Veröffentlichung verwiesen werden.

Der Grundgedanke des Verfahrens ist folgender: Die untersuchte Menge wird durch fortwährendes Dritteln so lange geteilt, bis eine genügend kleine

Menge erreicht ist, in der nur mehr 1 oder 2 Keime vorhanden sind, mit anderen Worten in welcher 1 oder 2 Drittel keimfrei bleiben.

$$
\begin{array}{l}
a = a/3 + a/3 + a/3 \\
\qquad\qquad a/3 = a/9 + a/9 + a/9 \\
\qquad\qquad\qquad\qquad a/9 = a/27 + a/27 + a/27 \\
\hline
a = a/3 + a/3 + a/9 + a/9 + a/27 + a/27 + a/27 \text{ usw.}
\end{array}
$$

Es werden z. B. in einer Reihe von 9 sterilen Röhrchen in das 1., 3., 5. und 7. je 2 ccm sterile Nährlösung gebracht. Man pipettiert nun in das 1. Röhrchen 1 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit, mischt gut durch und entnimmt mit einer neuen Pipette 2 ccm des Gemisches und verteilt sie gleichmäßig auf das 2. und 3. Röhrchen. Im 3. Röhrchen wird wieder gemischt, sodann werden 2 ccm entnommen und auf das 4. und 5. verteilt und so fort bis zum 9. Röhrchen. Die Verteilung von 1 ccm der Untersuchungsflüssigkeit auf die ganze Reihe ist dann folgende:

$$1 = 1/3 + 1/3 + 1/9 + 1/9 + 1/27 + 1/27 + 1/81 + 1/81 + 1/81.$$

Ganz analog wird die Viertelung durchgeführt, nur kommt in das 1., 4. und 7. Röhrchen je eine Menge von 3 ccm sterile Nährlösung. 1 ccm Untersuchungsflüssigkeit verteilt sich dann folgendermaßen:

$$1 = 1/4 + 1/4 + 1/4 + 1/16 + 1/16 + 1/16 + 1/64 + 1/64 + 1/64 + 1/64.$$

Ist die Verdünnung genügend weit vorgetrieben worden, so werden nach der Bebrütung an einer Stelle der Reihe nicht mehr alle 3 Drittel bzw. alle 4 Viertel Wachstum zeigen. Eine einfache Überlegung ergibt, daß in dieser Verdünnung eben nur mehr vereinzelte Keime vorhanden gewesen sein können. Mit Hilfe der Wahrscheinlichkeitsrechnung lassen sich nun die wahrscheinlichsten Keimzahlen ermitteln für den Fall, daß nur 1 oder 2 Drittel Wachstum zeigen.

Der Gang einer solchen Berechnung soll nun in den nachstehenden Absätzen kurz erläutert werden, wobei das leicht zu übersehende Hälftungsverfahren gewissermaßen als Modell dienen soll. Man denke sich folgenden Fall. In einer Flasche befinde sich 1 l Wasser, das 1 Colibakterium enthält. Setzt man nun aus diesem Liter Wasser einen Gärtiter an, indem man 100, 10 und 1 ccm Wasser in Traubenzuckerbouillon bringt und bebrütet, so wird eine der drei Proben Gärung zeigen, wenn das eine vorhandene Colibakterium sich zufällig in den abgeimpften 111 ccm befunden hat. Setze ich aus dem Liter Wasser aber 10 Proben mit 100 ccm oder 100 Proben mit 10 ccm bzw. 1000 Proben mit 1 ccm an, so wird mit Gewißheit eine dieser 10, 100 oder 1000 Proben Gärung zeigen. Bezeichne ich diese Gewißheit durch die Zahl 1,0, so beträgt die Wahrscheinlichkeit, daß der Colikeim in einer bestimmten 100-ccm-Probe vorhanden ist, eben 0,1, für eine bestimmte 10-ccm-Probe 0,01 und für eine bestimmte 1,0-ccm-Probe 0,001, da die Wahrscheinlichkeit, daß ein bestimmtes Ereignis eintritt, mathematisch als echter Bruch definiert wird, dessen Zähler die günstigen Fälle — hier also gleich 1 — und dessen Nenner die möglichen Fälle — hier also 10 bzw. 100 oder 1000 — anzeigt.

Für den Fall, daß 10 Colikeime in einer Flasche mit 10 l Wasser vorhanden sind, beträgt die Wahrscheinlichkeit, daß in einer bestimmten 100-ccm-Probe Colikeime gefunden werden, 10/100, also ebenfalls 0,1 und für eine 500-ccm-Probe 10/20, also 0,5. Genau das gleiche gilt aber auch für eine

unbegrenzt große Wassermenge, deren Keimdichte 1 Bakterium auf 1 l Wasser beträgt.

Es soll nun folgender Fall betrachtet werden. Aus einer größeren bakterienhaltigen Flüssigkeitsmenge werden 100 ccm entnommen und diese 100 ccm in 2 Hälften geteilt, auf die Anwesenheit von Bakterien untersucht. War in den entnommenen 100 ccm 1 Keim vorhanden, so muß in einer von den beiden Hälften Wachstum auftreten. Da eine andere Möglichkeit nicht besteht, ist die Wahrscheinlichkeit gleich der Gewißheit, also 1,0. Waren 2 Keime vorhanden, so können diese sich entweder gemeinsam in der einen Hälfte befinden oder es kann jeder Keim für sich eine Hälfte besetzen. Das gleiche wird bei 3, 4 und mehr Keimen der Fall sein. Nur ist es augenscheinlich, daß es mit zunehmender Keimanzahl immer unwahrscheinlicher wird, daß sämtliche Keime in einer Hälfte beisammen sind und die zweite Hälfte frei bleibt. Wenn es nun möglich ist, jene Anzahl von Bakterien festzustellen, bei welcher ihre Verteilung gleich oft auf nur eine oder auf beide Hälften erfolgt, läßt sich darauf eine einfache Schätzung der in einer beliebigen Flüssigkeitsmenge vorhandenen Keime aufbauen. Man braucht nur eine Verdünnungsreihe aufstellen, bei welcher die folgende Verdünnung immer die Hälfte der Probenmenge der vorherigen Verdünnung enthält, und bekommt so schließlich eine Verdünnung, in welcher nur mehr in einer Hälfte Bakterien vorhanden sind. Damit ist bereits ein ungefährer Anhaltspunkt für die Keimdichte der zu untersuchenden Flüssigkeit gewonnen. Denn in dieser Verdünnung sind eben die Bakterien nur mehr in ganz geringer Anzahl vorhanden. Auf die Frage, bei welchem Keimgehalt diese Art der Keimverteilung am wahrscheinlichsten erfolgt, kann nun entweder der Mittelwert aus einer großen Anzahl von Zählversuchen Aufschluß geben oder kürzer und müheloser die Wahrscheinlichkeitsrechnung. Für den betrachteten Fall gestaltet sich die „exakte“ Berechnung so einfach, daß sie ohne weiteres im folgenden durchgeführt werden kann.

Es wurde schon oben gezeigt, daß die Wahrscheinlichkeit dafür, daß ein in einer bestimmten Menge vorhandener Keim sich in einer der beiden Hälften befindet, gleich 1,0 ist. Diese Wahrscheinlichkeit sei mit W_{I_1} bezeichnet, wobei „I“ die Anzahl der besetzten Hälften und „1“ die Anzahl der Keime bezeichnen möge. Die Wahrscheinlichkeit nun, daß ein zweiter Keim in die schon besetzte Hälfte fällt, ist ganz gleich groß wie die, daß er in die unbesetzte Hälfte fällt. Da außer diesen beiden keine andere Möglichkeit besteht, müssen sich diese beiden Wahrscheinlichkeiten auf 1,0 ergänzen und, da sie gleich groß sein sollen, können sie nur 0,5 betragen. Nun berechnet sich aber die Wahrscheinlichkeit, daß zwei oder mehrere voneinander unabhängige Ereignisse gleichzeitig oder in bestimmter Reihenfolge nacheinander eintreten, die sog. „zusammengesetzte Wahrscheinlichkeit“ als Produkt der einzelnen Wahrscheinlichkeiten.

W_{I_2}, also die Wahrscheinlichkeit, daß 2 Keime ein und dieselbe Hälfte besetzen, berechnet sich daher als Produkt aus der Wahrscheinlichkeit, daß 1 Keim eine beliebige der beiden Hälften besetzt hat, und aus der zweiten Wahrscheinlichkeit, daß der 2. Keim in die schon besetzte Hälfte fällt. Die erstere Wahrscheinlichkeit ist, wie wir bereits oben festgestellt haben, $W_{I_1} = 1,0$. Die zweite Wahrscheinlichkeit ist, wie wir ebenfalls schon gesehen haben, gleich 0,5. Das Produkt ist somit $1,0 \times 0,5 = 0,5$ oder als Formel, ausgedrückt, $W_{I_2} = 1,0 \times 0,5 = 0,5$. Die Wahrscheinlichkeit, daß 2 Keime beide Hälften besetzen, also W_{II_2}, berechnet sich nach dem obigen ebenfalls

als $1\,0 \times 0{,}5 = 0{,}5$. Denn die Wahrscheinlichkeit, daß der 2. Keim in die leere Hälfte fällt, ist gleich groß der, daß er in die schon besetzte Hälfte fällt. Da eine dritte Möglichkeit nicht besteht, muß daher auch $W_{I_2} + W_{II_2}$ gleich 1,0 sein, was auch tatsächlich stimmt, denn $0{,}5 + 0{,}5 = 1$.

Damit ist aber bereits festgestellt, daß bei der Keimzahl 2 gleich oft beide Hälften so wie auch nur eine besetzt werden.

Für die Auswertung der praktischen Untersuchungen ist nun noch die rechnerische Behandlung der Frage wichtig, wie groß die Wahrscheinlichkeit ist, daß das Untersuchungsergebnis, daß nur eine Hälfte Bakterienwachstum zeigt, durch 1, 2, 3 oder mehr Keime verursacht wird. Erst die Erledigung dieser Frage gestattet uns einen Schluß über die Schwankungsbreite und damit über die Zuverlässigkeit des berechneten wahrscheinlichsten Wertes.

Die Berechnung dieser „ursächlichen" Wahrscheinlichkeit gestaltet sich folgendermaßen. Zuerst berechnet man die Einzelwahrscheinlichkeiten dafür, daß 1, 2, 3, 4 und mehr Keime eine Hälfte besetzen, dann summiert man sämtliche so erhaltene Werte und dividiert, die zuerst berechneten Einzelwahrscheinlichkeiten durch diese Summe. Die so erhaltenen Maßzahlen geben dann die Größe der Wahrscheinlichkeit dafür an, daß das Auftreten von Bakterienwachstum in nur einer Hälfte durch eine bestimmte Keimzahl hervorgerufen wird. Die Berechnung der Einzelwahrscheinlichkeiten gestaltet sich für den vorliegenden Fall nach den schon oben für 1 und 2 Keime angewendeten Regeln überaus einfach. Denn jeder weitere Keim kann ja ebenfalls nur in die schon besetzte oder in die noch leere Hälfte fallen. Die Wahrscheinlichkeit ist für beide Fälle gleich groß. Sie muß also 0,5 betragen. Es tritt somit immer wieder der gleiche Faktor 0,5 auf. Es ist somit:

$$W_{I_1} = 1{,}0$$
$$W_{I_2} = 1{,}0 \times 0{,}5 = 0{,}5$$
$$W_{I_3} = 1{,}0 \times 0{,}5 \times 0{,}5 = 0{,}25$$
$$W_{I_4} = 1{,}0 \times 0{,}5 \times 0{,}5 \times 0{,}5 = 0{,}125$$

usw.

Man sieht leicht ein, daß diese Folge der Einzelwahrscheinlichkeiten den Gliedern einer geometrischen Reihe mit dem Anfangsglied $A = 1$ und dem Quotienten $Q = 0{,}5$ entspricht. Für die Summe aller Glieder von 1 bis ∞, also für den Summenwert von $W_{I_1} + W_{I_2} + W_{I_3} + \ldots + W_{I\infty}$ berechnet sich daher nach der Summenformel für die geometrischen Reihen

$$S = \frac{A}{1 - Q} \text{ der Wert } \frac{1}{1 - 0{,}5} = 2.$$

Im folgenden wird nun eine Zusammenstellung der Einzelwahrscheinlichkeiten für die Verteilung von 1—14 Keimen auf eine oder beide Hälften gegeben (Tab. 1a). Um Dezimalstellen zu vermeiden, ist die Tabelle so eingerichtet, daß der Wahrscheinlichkeitswert für die Gewißheit gleich 10 000 gesetzt ist. Die Zahlen geben somit unmittelbar an, wie oft sich bei 10 000 Untersuchungen z. B. 6 Keime nur in einer Hälfte befinden oder in wieviel Fällen sie sich auf beide Hälften verteilen.

Die Maßzahlen für die „ursächliche Wahrscheinlichkeit" berechnen sich nun einfach aus den Werten der Tab. 1a mittels Division durch die zugehörige Reihensumme. Diese beträgt für die Besetzung einer Hälfte, wie wir schon früher festgestellt haben, zwei. Die so erhaltenen Werte sind in Tab. 1b zusammengestellt. Für die Besetzung beider Hälften würde die Reihensumme

Tabelle 1a.

Anzahl der Keime	x-Keime verteilen sich bei 10 000 Untersuchungen auf eine Hälfte	beide Hälften
x = 1	10 000mal	—
2	5 000 „	5000mal
3	2 500 „	7500 „
4	1 250 „	8750 „
5	625 „	9375 „
6	312 „	9688 „
7	156 „	9844 „
8	78 „	9922 „
9	39 „	9961 „
10	20 „	9980 „
11	10 „	9990 „
12	5 „	9995 „
13	2 „	9998 „
14	1 „	9999 „

Tabelle 1b.

Anzahl der Keime	x-Keime verursachen bei 10 000 Untersuchungen Wachstum in einer Hälfte	
x = 1	5000mal	
2	2500 „	94%
3	1250 „	
4	625 „	
5	312 „	
6	156 „	99%
7	78 „	
8	39 „	
9	20 „	99,9%
10	10 „	
11	5 „	
12	2 „	99,99%
13	1 „	
14	0,5mal	

unendlich groß sein. Es lassen sich daher hierfür keine ursächlichen Wahrscheinlichkeitswerte angeben, was ja ohne weiteres begreiflich ist, da jede noch so große Keimmenge, welche in der ganzen Probe vorhanden ist, nicht mehr wie beide Hälften der Probe besetzen kann.

Für die Beantwortung der eingangs gestellten Frage, bei welchem Keimgehalt der Probe es am wahrscheinlichsten ist, daß nur eine Hälfte besetzt wird, zeigt Tab. 1b, daß dieses Untersuchungsergebnis in der Hälfte aller überhaupt möglichen Fälle schon durch einen einzigen Keim hervorgerufen wird. In drei Viertel der Fälle besetzen nicht mehr wie 2 Keime und in 99% nicht mehr wie 7 Keime nur eine Hälfte. Die wahrscheinlichste Keimzahl erhält man aber, indem man aus den einzelnen Keimgehalten und der ihnen zukommenden Häufigkeit ihres Vorkommens das „gewogene Mittel" berechnet. Hierzu werden die einzelnen Keimzahlen mit den zugehörigen Maßzahlen für die ursächliche Wahrscheinlichkeit multipliziert und die Summe dieser Produkte durch die Summe der Wahrscheinlichkeitswerte dividiert. Die Durchführung dieser Rechnung für die ersten 10 Reihenglieder (die Keimzahlen 1—10) ergibt den Näherungswert 1,991. Als Grenzwert ist somit 2 anzunehmen. Dieses Ergebnis stimmt auch mit dem Umstand sehr gut überein, daß sich nach Tab. 1a 2 Keime gleich oft auf eine wie auf beide Hälften verteilen. Bei der Besetzung nur einer Hälfte ist daher als wahrscheinlichste Keimzahl das Vorhandensein von 2 Keimen im ganzen anzunehmen.

Ein Beispiel soll die praktische Anwendung verdeutlichen. Zum Nachweis von Bact. coli in Trinkwasser seien nach dem von E. Krombholz veröffentlichten Hälftungsverfahren folgende Aussaaten von Wasser in Milchzuckerbouillon angesetzt worden:

50, 25, 12, 6, 3, 2, 1, 1 ccm.

Insgesamt sind also 100 ccm Wasser verimpft worden, wobei die Aussaatmengen so abgestuft wurden, daß die folgende Menge immer die Hälfte der vorhergehenden ist. Dabei wurden Bruchteile von 1 ccm nicht mehr berücksichtigt.

Nach 2tägiger Bebrütung bei 37° C sei in den Proben mit 50, 25 und 12 ccm Gasbildung aufgetreten. Somit ist in 12 ccm Bact. coli noch

vorhanden, während in den weiteren $6 + 3 + 2 + 1 + 1$ ccm $= 13$ ccm kein Coli anwesend ist. Es ist also nur eine Hälfte von 25 ccm besetzt. Da für 25 ccm somit 2 Keime anzunehmen sind, beträgt die Keimzahl für 100 ccm 8. In einem anderen Fall seien die Röhrchen mit 50, 25, 12 und 2 ccm positiv. Es ist dann die 6-ccm-Probe colifrei. In den restlichen 7 ccm der zweiten Hälfte ($3 + 2 + 1 + 1$ ccm) sind aber Colibakterien vorhanden, da ja die 2-ccm-Probe positiv ist. Es ist somit eine Hälfte von 13 ccm besetzt. Für 100 ccm berechnen sich somit $\frac{2 \times 100}{13}$ Keime oder rund 15.

Die Ermittlung der wahrscheinlichsten Keimzahl erfolgt nun bei der Drittelungs-, Viertelungs- oder jeder anderen Zählmethode, die sich auf dem Grundsatz der fortgesetzten Teilung aufbaut, in der gleichen Weise wie sie eben für das Hälftungsverfahren besprochen wurde. Allerdings wird mit zunehmender Anzahl der Unterteilungen der Ansatz für die Wahrscheinlichkeitsrechnung immer weniger übersichtlich. Doch treten dafür bei der Berechnung der einzelnen Wahrscheinlichkeitsreihen Gesetzmäßigkeiten zutage, die es gestatten, die Berechnungsformeln für die einzelnen Reihen ohne weiteres aus auseinander abzuleiten und nach dem einmal festgelegten Schema für jede beliebige Anzahl von Unterteilungen anzugeben. Im folgenden sollen diese Formeln für das erste Glied sowie für das allgemeine Glied jeder Reihe und für die Reihensumme mitgeteilt werden. Der Übersichtlichkeit halber werden dabei die Wahrscheinlichkeitswerte für die Besetzung einer Unterteilung mit „a", für die Besetzung von zwei Unterteilungen mit „b", von drei Unterteilungen mit „c" bezeichnet und so fort. Anschließend an diese Formeln folgen die den Tab. 1a und 1b entsprechenden Tabellen für das Drittelungs-, Viertelungs- und Fünftelungsverfahren.

Hälftung:	Erstes Glied:	Allgem. Glied:	Reihensumme:
$^1/_2$ besetzt:	$W_{I,1} = a_1 = 1$	$a_n = \frac{a_{n-1}}{2}$	$\Sigma_{I,1-\infty} = \frac{2}{1}$
$^2/_2$ besetzt:	$W_{II,2} = b_2 = \frac{a_1}{2}$	$b_n = \frac{2\,a_{n-1} + b_{n-1}}{2}$	$\Sigma_{II,1-\infty} = \frac{2}{0} = \infty$

Drittelung:			
$^1/_3$ besetzt:	$W_{I,1} = a_1 = 1$	$a_n = \frac{a_{n-1}}{3}$	$\Sigma_{I,1-\infty} = \frac{3}{2}$
$^2/_3$ besetzt:	$W_{II,2} = b_2 = \frac{2\,a_1}{3}$	$b_n = \frac{2\,a_{n-1} + 2\,b_{n-1}}{3}$	$\Sigma_{II,2-\infty} = \frac{3}{1}$
$^3/_3$ besetzt:	$W_{III,3} = c_3 = \frac{b_2}{3}$	$c_n = \frac{b_{n-1} + 3\,c_{n-1}}{3}$	$\Sigma_{III,3-\infty} = \frac{3}{0} = \infty$

Viertelung:			
$^1/_4$ besetzt:	$W_{I,1} = a_1 = 1$	$a_n = \frac{a_{n-1}}{4}$	$\Sigma_{I,1-\infty} = \frac{4}{3}$
$^2/_4$ besetzt:	$W_{II,2} = b_2 = \frac{3\,a_1}{4}$	$b_n = \frac{3\,a_{n-1} + 2\,b_{n-1}}{4}$	$\Sigma_{II,2-\infty} = \frac{4}{2}$

Drittelungsverfahren.

Tabelle 2 a.

Anzahl der Keime	x-Keime verteilen sich in 10 000 Fällen		
	auf $^1/_3$ $a_n = \frac{a_{n-1}}{3}$	auf $^2/_3$ $b_n = \frac{2(a_{n-1} + b_{n-1})}{3}$	auf alle $^3/_3$ $c_n = \frac{b_{n-1} + 3c_{n-1}}{3}$
x = 1	a = 10 000mal	—	—
2	3 333 „	6667mal	—
3	1 111 „	6667 „	2222mal
4	370 „	5185 „	4444 „
5	123 „	3703 „	6173 „
6	41 „	2551 „	7407 „
7	14 „	1728 „	8258 „
8	4 „	1161 „	8834 „
9	1 „	777 „	9221 „
10	1 „	519 „	9480 „
11	—	346 „	9654 „
12	—	231 „	9769 „
13	—	154 „	9846 „
14	—	103 „	9897 „
15	—	68 „	9931 „
16	—	46 „	9954 „
17	—	30 „	9969 „
18	—	20 „	9980 „
19	—	13 „	9987 „
20	—	9 „	9991 „
21	—	6 „	9994 „
22	—	4 „	9996 „
23	—	3 „	9997 „
24	—	2 „	9998 „
25	—	1 „	9999 „
Σ	$^3/_2 \cdot 10\,000$	$^3/_1 \cdot 10\,000$	$^3/_0 = \infty$

Tabelle 2 b.

Anzahl der Keime	x-Keime verursachen in 10 000 Fällen Wachstum in $^1/_3$	x-Keime verursachen in 10 000 Fällen Wachstum in $^2/_3$	Anzahl der Keime	x-Keime verursachen in 10 000 Fällen Wachstum in $^3/_3$
x = 1	6667mal	—	13	51mal
2	2222 „	2222mal	14	34 „
3	741 „	2222 „	15	23 „
4	247 „	1728 „	16	15 „
5	82 „	1234 „	17	10 „
6	27 „	850 „	18	7 „
7	9 „	576 „	19	4 „
8	3 „	387 „	20	3 „
9	1 „	259 „	21	2 „
10	1 „	173 „	22	1 „
11	—	115 „	23	1 „
12	—	77 „	24	1 „
			25	—

Viertelungsverfahren.

Tabelle 3 a.

Anzahl der Keime	x-Keime verteilen sich in 10 000 Fällen			
	auf $^1/_4$ $a_n = \frac{a_{n-1}}{4}$	auf $^2/_4$ $b_n = \frac{3a_{n-1}+2b_{n-1}}{4}$	auf $^3/_4$ $c_n = \frac{2b_{n-1}+3c_{n-1}}{4}$	auf $^4/_4$ $d_n = \frac{c_{n-1}+4d_{n-1}}{4}$
x = 1	10 000mal	—	—	—
2	2 500 „	7500mal	—	—
3	625 „	5625 „	3750mal	—
4	156 „	3281 „	5625 „	938mal
5	39 „	1758 „	5859 „	2345 „
6	10 „	908 „	5273 „	3810 „
7	2 „	461 „	4409 „	5127 „
8	—	232 „	3538 „	6229 „
9	—	116 „	2769 „	7114 „
10	—	58 „	2136 „	7805 „
11	—	29 „	1631 „	8340 „
12	—	15 „	1238 „	8747 „
13	—	7 „	936 „	9055 „
14	—	3 „	706 „	9291 „
15	—	2 „	531 „	9467 „
16	—	1 „	399 „	9600 „
17	—	—	300 „	9700 „
18	—	—	225 „	9775 „
19	—	—	169 „	9831 „
20	—	—	127 „	9873 „
21	—	—	95 „	9905 „
22	—	—	71 „	9929 „
23	—	—	54 „	9946 „
24	—	—	40 „	9960 „
25	—	—	30 „	9970 „
26	—	—	23 „	9977 „
27	—	—	17 „	9983 „
28	—	—	13 „	9987 „
29	—	—	10 „	9990 „
30	—	—	7 „	9993 „
31	—	—	5 „	9995 „
32	—	—	4 „	9996 „
33	—	—	3 „	9997 „
34	—	—	2 „	9998 „
35	—	—	2 „	9998 „
36	—	—	1 „	9999 „
37	—	—	1 „	9999 „
38	—	—	1 „	9999 „
Σ	$^4/_3 \cdot 10\,000$	$^4/_2 \cdot 10\,000$	$^4/_1 \cdot 10\,000$	$^4/_0 = \infty$

Viertelung:

$^3/_4$ besetzt: $W_{III,3} = c_3 = \frac{2\,b_2}{4}$ $\quad c_n = \frac{2\,b_{n-1} + 3\,c_{n-1}}{4}$ $\quad \Sigma_{III,3-\infty} = \frac{4}{1}$

$^4/_4$ besetzt: $W_{IV,4} = d_4 = \frac{c_3}{4}$ $\quad d_n = \frac{c + 4\,d_{n-1}}{4}$ $\quad \Sigma_{IV,4-\infty} = \frac{4}{0} =$

Viertelungsverfahren.

Tabelle 3 b.

Anzahl der Keime	x-Keime verursachen in 10 000 Fällen Wachstum		
	in $^1/_4$	in $^2/_4$	in $^3/_4$
x = 1	7500mal	—	—
2	1875 „	3750mal	—
3	469 „	2812 „	937mal
4	117 „	1641 „	1406 „
5	29 „	879 „	1465 „
7	7 „	454 „	1318 „
7	2 „	231 „	1102 „
8	—	116 „	884 „
9	—	58 „	692 „
10	—	29 „	534 „
11	—	15 „	407 „
12	—	7 „	309 „
13	—	4 „	234 „
14	—	2 „	176 „
15	—	1 „	133 „
16	—	—	100 „
17	—	—	75 „
18	—	—	56 „
19	—	—	42 „
20	—	—	32 „
21	—	—	24 „
22	—	—	18 „
23	—	—	13 „
24	—	—	10 „
25	—	—	8 „
26	—	—	6 „
27	—	—	4 „
28	—	—	3 „
29	—	—	2 „
30	—	—	2 „
31	—	—	1 „
32	—	—	1 „
33	—	—	1 „
34	—	—	1 „

Fünftelung:

$^1/_5$ bestezt: $W_{I,1} = a_1 = 1 \qquad a_n = \frac{a_{n-1}}{5} \qquad \Sigma_{I,1-\infty} = \frac{5}{4}$

$^2/_5$ besetzt: $W_{II,2} = b_2 = \frac{4\,a_1}{5} \qquad b_n = \frac{4\,a_{n-1} + 2\,b_{n-1}}{5} \qquad \Sigma_{II,2-\infty} = \frac{5}{3}$

$^3/_5$ besetzt: $W_{III,3} = c_3 = \frac{3\,b_2}{5} \qquad c_n = \frac{3\,b_{n-1} + 3\,c_{n-1}}{5} \qquad \Sigma_{III,3-\infty} = \frac{5}{2}$

$^4/_5$ besetzt: $W_{IV,4} = d_4 = \frac{2\,c_3}{5} \qquad d_n = \frac{2\,c_{n-1} + 4\,d_{n-1}}{5} \qquad \Sigma_{IV,4-\infty} = \frac{5}{1}$

$^5/_5$ besetzt: $W_{V,5} = e_5 = \frac{d_4}{5} \qquad e_n = \frac{d_{n-1} + 5\,e_{n-1}}{5} \qquad \Sigma_{V,5-\infty} = \frac{5}{0} = \infty$

Fünftelungsverfahren. Tabelle 4 a.

Anzahl der Keime	x-Keime verteilen sich in 10 000 Fällen				
	auf $^1/_5$	auf $^2/_5$	auf $^3/_5$	auf $^4/_5$	auf $^5/_5$
	$a_n = \frac{a_{n-1}}{5}$	$b_n = \frac{4a_{n-1} + 2b_{n-1}}{5}$	$c_n = \frac{3(b_{n-1} + c_{n-1})}{5}$	$d_n = \frac{2c_{n-1} + 4d_{n-1}}{5}$	$e_n = \frac{d_{n-1} + 5e_{n-1}}{5}$
x = 1	10 000mal	—	—	—	—
2	2 000 „	8000mal	—	—	—
3	400 „	4800 „	4800mal	—	—
4	80 „	2240 „	5760 „	1920mal	—
5	16 „	960 „	4800 „	3840 „	384mal
6	3 „	397 „	3456 „	4992 „	1152 „
7	1 „	161 „	2312 „	5376 „	2151 „
8	—	65 „	1484 „	5225 „	3226 „
9	—	26 „	929 „	4773 „	4271 „
10	—	10 „	573 „	4191 „	5226 „
11	—	4 „	350 „	3582 „	6064 „
12	—	2 „	212 „	3006 „	6781 „
13	—	1 „	129 „	2490 „	7381 „
14	—	—	78 „	2043 „	7879 „
15	—	—	47 „	1666 „	8288 „
16	—	—	28 „	1351 „	8621 „
17	—	—	17 „	1092 „	8891 „
18	—	—	10 „	880 „	9110 „
19	—	—	6 „	708 „	9286 „
20	—	—	4 „	569 „	9428 „
21	—	—	2 „	457 „	9541 „
22	—	—	1 „	366 „	9633 „
23	—	—	1 „	293 „	9706 „
24	—	—	—	235 „	9765 „
25	—	—	—	188 „	9812 „
26	—	—	—	150 „	9850 „
27	—	—	—	120 „	9880 „
28	—	—	—	96 „	9904 „
29	—	—	—	77 „	9923 „
30	—	—	—	61 „	9939 „
31	—	—	—	49 „	9951 „
32	—	—	—	39 „	9961 „
33	—	—	—	31 „	9969 „
34	—	—	—	25 „	9975 „
35	—	—	—	20 „	9980 „
36	—	—	—	16 „	9984 „
37	—	—	—	13 „	9987 „
38	—	—	—	10 „	9990 „
39	—	—	—	8 „	9992 „
40	—	—	—	7 „	9993 „
41	—	—	—	5 „	9995 „
42	—	—	—	4 „	9996 „
43	—	—	—	3 „	9997 „
44	—	—	—	3 „	9997 „
45	—	—	—	2 „	9998 „
46	—	—	—	2 „	9998 „
47	—	—	—	1 „	9999 „
48	—	—	—	1 „	9999 „
49	—	—	—	1 „	9999 „
50	—	—	—	1 „	9999 „
$\Sigma x_1 - x\infty$	$^5/_4 \cdot 10\,000$	$^5/_3 \cdot 10\,000$	$^5/_2 \cdot 10\,000$	$^5/_1 \cdot 10\,000$	$^5/_0 = \infty$

Fünftelungsverfahren.
Tabelle 4 b.

Anzahl der Keime	x-Keime verursachen in 10 000 Fällen Wachstum in $^1/_5$	in $^2/_5$	in $^3/_5$	in $^4/_5$
x = 1	8000mal	—	—	—
2	1600 „	4800mal	—	—
3	320 „	2880 „	1920mal	—
4	64 „	1344 „	2304 „	384mal
5	13 „	576 „	1920 „	768 „
6	3 „	238 „	1382 „	999 „
7	—	97 „	924 „	1075 „
8	—	39 „	594 „	1045 „
9	—	16 „	372 „	955 „
10	—	6 „	229 „	838 „
11	—	2 „	140 „	716 „
12	—	—	85 „	601 „
13	—	—	52 „	498 „
14	—	—	31 „	409 „
15	—	—	19 „	333 „
16	—	—	11 „	270 „
17	—	—	6 „	218 „
18	—	—	4 „	176 „
19	—	—	2 „	142 „
20	—	—	1 „	114 „
21	—	—	1 „	91 „
22	—	—	—	73 „
23	—	—	—	59 „
24	—	—	—	47 „
25	—	—	—	38 „
26	—	—	—	30 „
27	—	—	—	24 „
28	—	—	—	19 „
29	—	—	—	15 „
30	—	—	—	12 „
31	—	—	—	10 „
32	—	—	—	8 „
33	—	—	—	6 „
34	—	—	—	5 „
35	—	—	—	4 „
36	—	—	—	3 „
37	—	—	—	3 „
38	—	—	—	2 „
39	—	—	—	2 „
40	—	—	—	1 „
41	—	—	—	1 „
42	—	—	—	1 „
43	—	—	—	1 „
44	—	—	—	1 „

In der folgenden Tab. 5 sind die für das praktische Arbeiten wichtigen wahrscheinlichsten Keimzahlen zusammengestellt. Sie wurden wie beim Hälftungsverfahren als Durchschnittswert aller in der betreffenden Anzahl von Unterteilungen möglichen Keimgehalte errechnet. Die gleichen Werte findet man übrigens, wenn man in den Tabellen a jene Keimzahlen aufsucht, für welche die Verteilung der Keime auf n und n + 1 Unterteilungen annähernd gleichmäßig erfolgt. So verteilen sich z. B. beim Hälftungsverfahren (Tab. 1a) 2 Keime in 50% aller Fälle auf nur eine Hälfte und in 50% auf beide Hälften

oder es erfolgt in Tab. 3 a die Verteilung von 7 Keimen auf $^2/_4$ und $^3/_4$ zu $5 + 44 = 49\%$ und auf $^4/_4$ zu 51%.

Neben diesen für die Beurteilung des Keimgehaltes einer Flüssigkeit wichtigsten Zahlen sind außerdem die Grenzkeimzahlen beigefügt, unterhalb welcher 90,0 bzw. 99,0 und 99,9% aller möglichen Fälle liegen. Die Angabe dieser Grenzwerte, die sich aus den Tabellen b berechnen lassen, ermöglichen eine Abschätzung der Schwankungsbreite und damit der Zuverlässigkeit der Keimzahlbestimmung mittels der einzelnen Verfahren.

Tabelle 5.

Es sind	Wahrscheinlichste Keimzahl	In 90% der Fälle nicht mehr als	In 99% der Fälle nicht mehr als	In 99,9% der Fälle nicht mehr als
Hälftung:				
$^1/_2$ besetzt	2	3	7	10
Drittelung:				
$^1/_3$ besetzt	1 (1,5)	2	4	6
$^2/_3$ besetzt	4 (4,5)	7	13	19
Viertelung:				
$^1/_4$ besetzt	1 (1,3)	2	3	5
$^2/_4$ besetzt	3 (3,3)	5	8	12
$^3/_4$ besetzt	7 (6,9)	12	20	28
Fünftelung:				
$^1/_5$ besetzt	1 (1,2)	2	3	4
$^2/_5$ besetzt	3 (2,9)	4	7	9
$^3/_5$ besetzt	5 (5,4)	8	13	18
$^4/_5$ besetzt	9 (9,0)	17	27	37

Da in der früheren Veröffentlichung des Zählungsverfahrens als wahrscheinlichste Werte nicht diese Durchschnittskeimzahlen, sondern der häufigste Wert aus jeder Wahrscheinlichkeitsreihe angegeben wurde, sollen anschließend an die hier besprochenen Verfahren auch die wahrscheinlichsten Keimzahlen für das Zehntelungsverfahren nach der neuen, zweckentsprechenderen Berechnung angefügt werden.

Tabelle 6.

Zehntelungsverfahren.

Besetzt sind	Wahrscheinlichste Keimzahl	In 90% der Fälle nicht mehr als	In 99% der Fälle nicht mehr als	In 99,9% der Fälle nicht mehr als
$^1/_{10}$	1 (1,1)	1	2	3
$^2/_{10}$	2 (2,4)	3	4	6
$^3/_{10}$	4 (3,8)	5	7	9
$^4/_{10}$	5 (5,3)	7	10	13
$^5/_{10}$	7 (7,4)	10	13	17
$^6/_{10}$	10 (10,2)	13	17	23
$^7/_{10}$	13 (13,0)	17	24	33
$^8/_{10}$	17 (17,3)	26	36	50
$^9/_{10}$	26 (26,0)	43	57	81

Die Gegenüberstellung der einzelnen Verfahren in obigen Tabellen zeigt, wie die Zuverlässigkeit der Zählung mit der Anzahl der Unterteilungen an-

steigt und vor allem dann besonders groß ist, wenn nur wenige der Parallelproben Bakterien enthalten. Bei den beschriebenen Zählverfahren wird diesem Umstand schon von vornherein dadurch Rechnung getragen, daß die Verdünnungen in möglichst dichter Folge, und zwar abgestuft nach der Anzahl der parallelen Unterteilungen, eben als Hälftung, Drittelung usw. angelegt werden. Dadurch gleicht sich die geringere Zuverlässigkeit etwa des Hälftungsverfahren gegenüber dem Zehntelungsverfahren zum Teil wieder aus. Sie tritt aber des öfteren in fühlbarer Weise schon experimentell in einer merkbaren Unregelmäßigkeit bei der Besetzung der Röhrchen zutage. So kann es vorkommen, daß Röhrchen, denen eine größere Menge Untersuchungsmaterial eingeimpft wurde, kein Wachstum zeigen, während andere, mit geringeren Impfmengen versehene, Wachstum zeigen. Es handelt sich dabei um das Auftreten sog. „Springer", wie sie ja seit jeher die Titermethoden in den Ruf grober Unzuverlässigkeit gebracht haben. Nach der Definition der hier beschriebenen Verfahren als fortgesetzte Teilung wäre theoretisch das störende Auftreten von „Springern" gebannt, da eben in der Verdünnung, in welcher eine Teilmenge von Wachstum freibleibt, gezählt wird, und die Besetzung der nachfolgenden stärkeren Verdünnungen eben als Wachstum in der letzten Teilmenge der zu zählenden Verdünnung gilt. Trotzdem können aber bei der Hälftungsmethode wegen der unzureichenden Anzahl der Unterteilungen Fälle wie zum Beispiel der folgende auftreten, bei denen die definitionsgemäße Berechnung des Keimgehaltes zu offensichtlich fehlerhaften Ergebnissen führt. Es sei in der schon eingangs erwähnten Titerreihe nach Krombholz mit 50, 25, 12, 6, 3, 2, 1 und 1 ccm in 50 ccm kein Wachstum aufgetreten, dafür aber in den Röhrchen mit 25, 12, 2 und 1 ccm. Die restlichen Röhrchen mit 6, 3 und 1 ccm seien wie das erste negativ. Offensichtlich liegt hier eine abweichende Keimverteilung vor, wie sie nur sehr selten vorkommt. Obwohl in der einen Hälfte von 100 ccm keine Bakterien vorhanden sind, zeigen von den zur zweiten Hälfte gehörigen Röhrchen vier Wachstum. Es müssen also in dieser Hälfte mindestens 4 Keime vorhanden sein. Da nur eine Hälfte von 100 ccm besetzt ist, würde sich für 100 ccm Keimgehalt von zwei berechnen. Dieser ist aber augenscheinlich zu niedrig, da das einfache Abzählen der positiven Röhrchen schon das Vorhandensein von mindestens 4 Keimen in 100 ccm ergibt. Es wird daher richtig sein, in einem solchen Falle nicht schematisch vorzugehen, sondern sich dem augenscheinlichen Tatsachenbefund zu beugen und eine Keimzahl von 4 in 100 ccm anzugeben. Das Vorhandensein einer wesentlich höheren Keimzahl ist nicht recht anzunehmen, da das Freibleiben des 50-ccm-Röhrchens unbedingt dagegen spricht. Um sich weniger gewaltsam aus diesem Konflikt zu lösen, könnte man aber auch so vorgehen, daß man den Keimgehalt in 100 ccm als Mittelwert aus den Keimzahlen in den beiden Hälften berechnet. Die 50-ccm-Probe besitzt den Keimgehalt 0. Die anderen 50 ccm verteilen sich auf die restlichen 7 Röhrchen mit:

		13 ccm				
25 ccm	12 ccm	6 ccm	3 ccm	2 ccm	1 ccm	1 ccm
+	+	—	—	+	+	—
		1. Hälfte	2. Hälfte			
		—	+			

Es ist also von 13 ccm nur eine Hälfte positiv. In 50 ccm sind daher $\frac{50 \times 2}{13} = 7{,}7$, also rund 8 Keime vorhanden. Daraus berechnen sich für 100 ccm $0 + 8 = 8$ Keime.

Das Auftreten solcher „Springer" ist aber schon beim Drittelungsverfahren äußerst selten und beim Zehntelungsverfahren gehört es bereits zu den größten Seltenheiten, wenn bei 2 Paralleluntersuchungen die Zahl der positiven Röhrchen in beiden Reihen um 2 Röhrchen voneinander verschieden sind. Auch das Viertelungsverfahren erwies sich während einer etwa einjährigen Anwendungszeit in etwa 300 Versuchen als durchaus zuverlässig und genau. Überhaupt ließ die Erprobung in der Praxis dieses Verfahren als das handlichste erkennen. Vor allem durch die Möglichkeit, die bei bakteriologischen Untersuchungen üblichen zwei Parallelproben in einen Zählversuch einzubauen, ergibt sich bei der Viertelungsmethode ein Minimum an Arbeitsaufwand. Außerdem entstehen leicht zu übersehende Größenabstufungen, zu deren Abmessen keine Spezialpipetten erforderlich sind. Man reicht vielmehr mit den üblichen Vollpipetten zu 100 und 50 ccm sowie mit den ebenfalls allgemein gebräuchlichen in Zehntelkubikzentimeter unterteilten 10-ccm-Pipetten vollständig aus. Fernerhin überspannt man bereits mit 10 Röhrchen einen Zählspielraum von 1—100, wodurch die Berechnung der Keimzahlen sehr einfach und übersichtlich wird. Setzt man nämlich eine Verdünnungsreihe mit 3×25 ccm, 3×6 ccm und $4 \times 1{,}5$ ccm (im ganzen also 10 Röhrchen mit zusammen 99 ccm) an, so berechnet sich der größte noch zählbare Keimgehalt, wenn nur 1 Röhrchen mit 1,5 ccm negativ bleibt laut Tab. 5 (Besetzung von $^3/_4$ von 6 ccm) zu $\frac{6{,}88 \times 99}{6} = 114$. In 100 ccm sind somit rund 100 Keime vorhanden.

Diese Vorzüge lassen das Viertelungsverfahren als die Methode der Wahl für Titerbestimmungen erscheinen. Bei der Erprobung im praktischen Untersuchungsbetrieb an der Staatlichen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Wien konnte es das wesentlich umständliche Zehntelungsverfahren vollständig ersetzen und erwies sich bei der bakteriologischen Untersuchung von Wasser- und Milchproben als durchaus zuverlässig.

Es erübrigt sich nun noch die praktische Anwendung der Viertelungsmethode zur Bestimmung des Gärungserregergehaltes von Trinkwasser und zur Feststellung des Coli Aerogenes-Gehaltes in Milch zu beschreiben.

Untersuchungsgang zur Keimzahlbestimmung in größeren Flüssigkeitsmengen (100 ccm).

Grundsätzlich gelangen von jeder Trinkwasserprobe 100 ccm Wasser zur Untersuchung. Sind von einem Wasservorkommen, wie es gewöhnlich der Fall ist, zwei gleichwertige Parallelproben entnommen worden, so werden aus beiden Flaschen nur je 50 ccm entnommen und, um Material zu sparen, beide Parallelproben in einem Zählversuch untersucht. Hierzu werden die 50 ccm unter sterilen Bedingungen in einem 250 ccm fassenden Kolben mit der gleichen Menge einer doppelkonzentrierten Nährlösung gemischt. Aus jedem der beiden, nun 100 ccm Wasser-Nährlösung-Gemisch enthaltenden Kolben wird nun ein 50 ccm fassender Gärkolben abgefüllt, während die restlichen 50 ccm (25 ccm Wasser enthaltend) auf 7 kleinere Gärkolben oder Durham-Röhrchen aufgeteilt werden, und zwar werden 3 Proben mit je

12,5 ccm (6,25 ccm Wasser enthaltend) und 4 Proben mit je 3 ccm (1,5 ccm Wasser enthaltend) angesetzt. Damit sind die zu untersuchenden 100 ccm (genau 99,5 ccm) in $^{2}/_{4} + 2\ (^{3}/_{16} + {^{4}/_{64}})$ aufgeteilt worden, d. h. aus jeder der Parallelproben ist eine selbständige Verdünnungsreihe hergestellt worden, und beide zusammen ergeben die für die Zählung notwendigen 4 Viertel. Das nebenstehende Schema soll die Verhältnisse sinnfällig machen und das Ablesen der Untersuchungsergebnisse erleichtern. In der nebenstehenden Abbildung mögen die schraffierten Quadrate positive, also Gasbildung zeigende Gärröhrchen darstellen. Betrachtet man nun die 4 Viertel erster Ordnung, die aus den beiden 50-ccm-Gärkolben und den beiden Verdünnungsreihen bestehen, so ist in allen 4 Vierteln Gasbildung aufgetreten. Für die Zählung müssen daher die beiden Verdünnungsreihen herangezogen werden, in denen eine weitergehende Aufteilung der Untersuchungsmenge erfolgte.

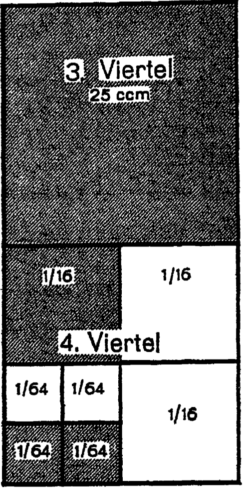


Abb. 1.

In der Reihe A zeigen im 2. Viertel zwei $^{1}/_{16}$ und ein $^{1}/_{64}$ Gasbildung. Von den in diesem Viertel vorhandenen 25 ccm sind somit $^{3}/_{4}$ 2. Ordnung positiv. Nach Tab. 5 sind somit in 25 ccm mit größter Wahrscheinlichkeit 7 Gasbildner vorhanden gewesen und in 100 ccm daher $\frac{7 \times 100}{25} = 28$ Keime. In der Reihe B sind im 4. Viertel ein $^{1}/_{16}$ und zwei $^{1}/_{64}$ eines zweiten $^{1}/_{16}$ positiv. Von 25 ccm Wasser sind daher $^{2}/_{4}$ positiv. Daher berechnet sich für 100 ccm eine Keimzahl von $\frac{3 \times 100}{25} = 12$. Im Gutachten wird nun die für jede Parallelprobe ermittelte Keimzahl getrennt angegeben, wodurch zugleich ein unmittelbares Bild über die Zuverlässigkeit der Untersuchung gegeben wird oder es können auch die beiden Keimzahlen gemittelt und der Mittelwert angegeben werden. Im vorliegenden Fall wäre er $\frac{28 + 12}{2} = 20$.

Ist für die Untersuchung nur eine Entnahme vorhanden, so werden 100 ccm Wasser mit 100 ccm doppelkonzentrierter Nährlösung gemischt und hiervon 3 Gärkolben mit 50 ccm und eine Verdünnungsreihe abgefüllt. Durch Anfügen weiterer Viertelungen kann der Zählspielraum noch beliebig erweitert werden. Handelt es sich jedoch um die Untersuchung stärker keimhaltiger Flüssigkeiten, so wird eine abgeänderte Versuchsanordnung rascher zum Ziel führen.

Untersuchung stärker keimhaltiger Flüssigkeiten.

In einem Kolben mit 50 ccm einfachkonzentrierter Nährlösung bringt man 1,0 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit, mischt gut durch und füllt

dann zu $3 \times 12{,}5 + 3 \times 3 + 4 \times 0{,}8 = 49{,}7$ ccm in Gärröhrchen ab. Auf diese Weise erhält man wieder eine Verdünnungsreihe von $^3/_4 + ^3/_{16} + ^4/_{64} = 1{,}0$ ccm.

Um die Ablesung der Untersuchungsergebnisse zu erleichtern, seien die bereits ausgerechneten Werte für alle drei Verdünnungen in Tab. 7 zusammengestellt. Dabei wurden für die Berechnung der Keimzahlen in den höheren Verdünnungen die genaueren (in Tab. 5 eingeklammerten) Werte für den wahrscheinlichsten Keimgehalt zugrunde gelegt.

Tabelle 7.

Wachstum zeigen	In der untersuchten Menge sind vorhanden
$^1/_4$	1 Keim
$^2/_4$	3 Keime
$^3/_4$	7 „
$^3/_4 + ^1/_{16}$	5 „
$+ ^2/_{16}$	13 „
$+ ^3/_{16}$	28 „
$^3/_4 + ^3/_{16} + ^1/_{64}$	20 „
$^2/_{64}$	52 „
$^3/_{64}$	110 „
$^4/_{64}$	100–∞ „

Auf den ersten Blick mag es nun sinnstörend wirken, daß in dieser Tabelle für die Besetzung von $^3/_4$ ein höherer Keimgehalt angegeben ist wie für die Besetzung von $^3/_4 + ^1/_{16}$. Eine einfache Überlegung klärt aber diesen scheinbaren Widerspruch rasch auf und schärft gleichzeitig das Gefühl für die richtige Beurteilung von Keimzählungen überhaupt. Wenn in $^4/_4$ 8 oder mehr Keime vorhanden sind und $^1/_4$ davon weiter geviertelt wird, so wird dieses gelegentlich einmal nur einen Keim enthalten. Viel wahrscheinlicher ist es aber, daß 2 oder mehr Keime vorhanden sind.

Zwei Keime verteilen sich aber nach Tab. 3 a 7500 mal auf $^2/_4$ und nur 2500 mal auf $^1/_4$. Es ist also schon bei der Anwesenheit von nur 2 Keimen in dem weiter unterteilten Viertel wahrscheinlicher, daß $^3/_4 + ^2/_{16}$ besetzt werden. Tatsächlich findet man bei den Zählversuchen auch meist $^3/_4 + ^2/_{16}$ oder $^2/_4 + ^1/_{16}$ besetzt, während das Ergebnis $^3/_4 + ^1/_{16}$ nur sehr selten auftritt und dann eben als der Ausdruck einer niedrigen Keimzahl zu werten ist, bei welcher in den positiven Unterteilungen nur vereinzelte Keime vorhanden sind. Damit wird aber auch die verhältnismäßig große Empfindlichkeit deutlich, mit der das Zählverfahren den tatsächlich vorhandenen Keimgehalt anzeigt, und es ergibt sich daraus, daß die exakte Auswertung der Titerverfahren keine mathematische Spielerei ist, sondern daß ihr eine ersnte, auch experimentell nachzuweisende Realität zukommt. Freilich gibt es gelegentlich auch stärkere Abweichungen, die einen unvorsichtigen Untersucher unter Umständen zu einem Trugschluß verleiten können. Denn nach den Zufallsgesetzen müssen solche gelegentlich auftreten. Aber gegen solche Extremfälle sichert in weitgehendem Maße die Untersuchung von Doppelproben und schließlich besteht diese Gefahr bei dem Plattenzählverfahren ebenso, da der Rückschluß von der in die Platte eingesäten Keimmenge auf den Keimgehalt der zu untersuchenden Probe den gleichen Zufallsgesetzen unterliegt, auf denen die hier beschriebenen Zählverfahren aufgebaut sind.

Zum Abschluß sei noch einiges über die bei der Durchführung der Zählversuche notwendige Meßgenauigkeit gesagt. Dabei ist das Hauptaugenmerk auf die Abmessung und vollständige Aufteilung der Gesamtprobenmenge zu richten, wobei aber eine Meßgenauigkeit von $\pm$ 1,0% ausreicht. Bei der Abmessung der Teilmengen, für welche eine Meßgenauigkeit von $\pm$ 5% genügt, ist Wert auf die richtige Abmessung der kleinsten Teilmengen und der Summenwerte für $^3/_4$, $^3/_{16}$ und $^4/_{64}$ zu legen. Es empfiehlt sich, auch bei der Abfüllung mit den kleinsten Teilmengen zu beginnen. Wie schon hervorgehoben wurde, ist die Verwendung von Spezialpipetten überflüssig. Selbst die Abmessung von 0,8 ccm, wie sie bei der Untersuchung stärker keimhaltiger Flüssigkeiten erforderlich ist, kann noch in 10 ccm-Pipetten erfolgen, die in 0,1 ccm unterteilt sind. Dabei ist aber darauf zu achten, daß die Endmarke für $4 \times 0{,}8 = 3{,}2$ ccm möglichst genau gemessen wird, während Unterschiede zwischen den gleichbemessenen Unterteilungen eine untergeordnete Rolle spielen.

Die großen Gärkolben werden am besten durch Eingießen des im Mischkolben verbleibenden Restes von 50 bzw. 37,5 ccm gefüllt. Will man auch diesen Rest einpipettieren, so empfiehlt es sich, von der zu untersuchenden Flüssigkeit nicht 50 bzw. 1,0 ccm zu entnehmen, sondern 55 und 1,1 ccm und diese mit 55 ccm Nährlösung zu mischen. Es bleibt dann im Mischkolben ein größerer Rest zurück, aus welchem man die letzten Teilmengen leicht abpipettieren kann.

Die angegebenen Genauigkeitsgrenzen gestatten ein sehr rasches Arbeiten und sind völlig ausreichend, da ja die Angabe der Keimzahlen nach einer Skala erfolgt, deren Marken nur eine Ablesegenauigkeit von 50—100% zulassen. Denn die aus Tab. 7 ablesbaren Keimzahlen sind ja: 1, 3, 5, 7, 13, 20, 28, 52, 110, welche zweckmäßigerweise noch auf: 1, 3, 5, 7, 15, 20, 30, 50, 100 abgerundet werden, um bei der Angabe der Ergebnisse nicht den Anschein einer Genauigkeit zu erwecken, die der Methode nicht zukommt.

Große Sorgfalt muß aber auf peinlich steriles Arbeiten bei der Entnahme und Verarbeitung der Proben verwendet werden, da schon kleine Verstöße in dieser Hinsicht das Untersuchungsergebnis ganz wesentlich verfälschen können.

Zusammenfassung.

Es wird ein einfaches und rasch durchzuführendes Verfahren der Keimzahlbestimmung in Nährlösungen beschrieben, das eine exakte Angabe des Keimgehaltes ermöglicht.

Gleichzeitig wird versucht, in allgemein verständlicher Form ein Bild der Behandlung des Problems der Keimzählungen in Nährlösungen mit Hilfe der Wahrscheinlichkeitsrechnung zu geben und damit eine Grundlage für die allgemeinere Verbreitung der exakten Auswertung der Titerverfahren zu schaffen.

Schrifttum.

1. Lorenz, W., Milchw. Forsch. Bd. 19. 1938. S. 292. — 2. Lorenz, W., Milchw. Forsch. Bd. 18. 1937. S. 265. — 3. Krombholz, E., Archiv f. Hyg. Bd. 84. 1915. S. 151; Bd. 85. 1916. S. 117; Bd. 88. 1919. S. 241. — 4. Krombholz, E. und Lorenz, W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 114. 1929. S. 138.

Über die biotisierten Ersatzmedien zur Pneumokokkenkultur.

Von J. Kořínek, Prag.

Das Bioproblem ist in der Bakteriologie keinesfalls neu. Schon im Jahre 1860 hat Pasteur die Hefe in synthetischem Medium aus Zucker und Mineralsalzen kultiviert. Liebig hat im Jahre 1871 dasselbe probiert, aber mit geringem Erfolg. Das Problem blieb damals unentschieden, da Liebig bald darauf gestorben ist. Erst 30 Jahre später hat Wildier konstatiert, daß die Nährlösung Pasteurs für sich allein zur Hefekultur ungeeignet ist, denn die Saccharomyceten erfordern zum Wachstum eine unbekannte kochfeste Substanz, die er als Bios bezeichnete. Heute weiß man schon, daß die Beobachtungen von Pasteur und Liebig gleich richtig waren. Pasteur hat aber mit den wilden Hefen gearbeitet, die Bios zu erzeugen imstande sind. Die Laboratoriumstämme haben diese Fähigkeit durch lange Kultur in den künstlichen Medien verloren. Es ist auch möglich, daß Pasteur mit großen Dosen geimpft hatte. Jeder Bakteriologe hat die Erfahrung gemacht, daß es vorteilhaft ist, bei manchen Mikroben (z. B. Mycobakterien) zur Impfung größere Dosen zu benutzen. Kořínek hat dieselbe Erfahrung mit den Cyanophyceen gemacht. Wenn man zur Impfung größere Dosen nimmt, so ist es sicher, daß man gleichzeitig auch viele tote Individuen überträgt und von denselben kann Bios in das Medium herausdiffundieren.

Die Reinkultur von Cyanophyceen ist ein ziemlich schwieriges Problem. Kořínek (1928) hat konstatiert, daß diese Organismen mit einem oligonitrophilen Bakterium in Symbiose leben und hat dieses mit dem Namen B. cyanicola bezeichnet. Das Bakterium assimiliert den freien Stickstoff nicht, ist aber oligonitrophil. Es wächst nämlich üppig auf den Nährböden, die als einzige Stickstoffquelle die im Agar enthaltenen Stickstoffspuren enthalten. Solche Mikroben sind in der Natur keine Seltenheit und befinden sich im Boden, im Wasser und auch im Meere (Kořínek 1932). Möglicherweise liefert das Bakterium der Alge den notwendigen Bios. Eine solche Symbiose existiert zwischen den Bakterien und den das Holz zerstörenden Pilzen. Diese gedeihen in Reinkultur auf den künstlichen Medien nicht, denn es fehlt ihnen das von den Bakterien erzeugte Bios.

Kořínek hat im Jahre 1929 konstatiert, daß die Bakterienaufschwemmungen ein gutes Kulturmedium für die sonst nicht leicht (besonders im Winter) kultivierbare Alge Spirogyra darstellen. Merkwürdigerweise ist die Wirkung der Aufschwemmung nur im Lichte günstig, nicht im Dunkeln. Da Spirogyra eine autotrophe grüne Alge ist, handelt es sich bei der Bakterienaufschwemmung sicher um das Bios.

Mit dem chemischen Charakter des Bios wollen wir uns nicht näher beschäftigen. Es ist heute klar, daß es sich nicht um eine einfache Substanz handelt, sondern um eine Mischung von mehreren Substanzen. Für das Bios I wird der zyklische Alkohol Mesoinosit gehalten. Andere Komponenten sind Vitamin B, Aneurin, wahrscheinlich auch Vita-

mine A und C. Am wirksamsten von allen Komponenten ist das Biotin, als Bios II bezeichnet, dessen Formel als $C_{11}H_{10}O_2N_2S$ bekannt ist.

Wie Dostál angibt, befindet sich das Bios in sehr vielen Pflanzen, wie z. B. im Spinat, in der Rübe, Kartoffel, im Mais, Rhabarber, Weizen. Eine sehr gute Biosquelle sind die Hefen.

Von den Arbeiten, die sich mit den Ersatzmedien für Bakterien beschäftigen, erwähnen wir nur die Arbeit von Vancura, der die Soja-Nährböden studiert hat. Er hat konstatiert, daß diese Nährböden für die pathogenen Bakterien ein gutes Ersatzmedium darstellen und für die meisten Saprophyten geeigneter sind als die üblichen Fleischextrakt-Nährböden.

Biotisierte Fleischbrühe.

Die Pneumokokken wachsen in gewöhnlicher Fleischbrühe nur spärlich oder überhaupt nicht (Bergey, Kaufmann). Diese Tatsache ist nicht leicht zu erklären. Der Nährstoffmangel kommt hier sicher nicht in Frage. Dasselbe gilt von der Wasserstoffionenkonzentration, denn diese läßt sich nach Belieben regulieren. Am wahrscheinlichsten spielt hier die Biosfrage die Hauptrolle. Biosproblem und Vitaminproblem haben viel Gemeinsames. Jetzt weiß man schon, daß die Vitamine nicht nur zum Nutzen der Menschen und der Tiere, sondern in erster Reihe zu eigenem Nutzen im Pflanzenkörper entstehen. Heute ist man berechtigt, die Enzyme, Vitamine, das Bios und die Hormone mit dem Kollektivnamen Biokatalysatoren zu bezeichnen. Als Quelle für das Vitamin A haben wir die Mohrrübe, für das B-Vitamin die Hefe benutzt. Die Erfolge waren überraschend. Es genügte, ein Stückchen Karotte der üblichen Rinderfleischbouillon hinzuzusetzen und zu sterilisieren. Es ist wahrscheinlich, daß wenigstens ein Teil von Beta-Karotten unzerstört bleibt. Beta-Karotten ist bekanntlich A-Provitamin. Das Medium wird infolge des saueren Pflanzensaftes schwach sauer. Trotzdem wachsen die Pneumokokken darin ziemlich gut. Noch besseres Wachstum erzielt man natürlich durch entsprechendes Alkalisieren des Mediums. Zugabe von Zucker wirkt auch günstig. Wir haben je zwei Tropfen 20proz. Dextrose und Saccharoselösung den 10 ccm der Fleischbrühe zugesetzt. In dieser biotisierten Fleischbrühe wuchsen alle unsere Pneumokokkenstämme, nämlich I, II, III, V, VII und XVIII sehr gut. Alle charakteristischen Merkmale der Pneumokokken, wie Lösbarkeit in der Galle, Gramfärbbarkeit und Pathogenität für die Maus waren wohl erhalten.

Die Pneumokokken haben die Fähigkeit, das Inulin zu spalten. Deswegen haben wie probiert, die Fleischbrühe mit Stückchen von Dahlia-Wurzeln zu biotisieren. Dahlia aber macht das Medium zu sauer, so daß die Pneumokokken erst nach dem entsprechenden Alkalisieren wachsen, was bei der Anwendung der Möhre nicht notwendig war.

Von den anderen schwer kultivierbaren Mikroben wuchsen Gonococcus, Menningococcus, B. abortus Bang und B. influenzae Pfeiffer nicht, wohl aber der Streptococcus haemolyticus. Dieser Coccus steht den Pneumokokken systematisch näher als die obenerwähnten Kokken.

Hefebouillon.

Saccharomyces cerevisiae ist bekanntlich B-Vitamin und Biosquelle. Deswegen probierten wir auch die gewöhnliche Fleisch-

brühe durch Hefen zu biotisieren. Dazu haben wir die übliche Preßhefe sowie die Reinkultur von Saccharomyces cerevisiae benutzt. Ein Stückchen Preßhefe oder 2—3 Ösen der Hefereinkultur wurden der Fleischbrühe zugesetzt. Es hat uns der Einfluß der lebenden sowie der getöteten Hefen interessiert. Im allgemeinen bewährte sich die getötete Hefe besser als die lebende. Bios ist nämlich fast vollkommen kochfest und kann aus getöteten Zellen herausdiffundieren. Aber auch mit lebenden Hefen kann man gute Resultate erzielen. In diesem Falle ist es aber besser, eine alte Hefekultur zu benutzen, denn dieselbe enthält schon viele tote Zellen. Aus diesen kann das Bios herausdiffundieren.

Wir haben auch den kombinierten Einfluß von Mohrrübe und Hefen studiert. Die Resultate waren sehr gut. Hier muß man natürlich nur tote Hefe benutzen, denn sonst würde der aus der Möhre herausdiffundierte Zucker vergoren werden. In der Hefefleischbrühe sowie in der kombinierten Möhre-Hefefleischbrühe wuchsen alle oben erwähnten Pneumokokkenstämme sehr gut.

Ersatzmedien ohne Pepton und Fleischextrakt.

Unsere Erfolge mit den biotisierten Medien haben uns ermuntert, die Medien ohne Fleischextrakt und Pepton zu probieren. Neutralisierter Extrakt von Kartoffel, Mohrrübe, Hefe mit Zusatz von Spuren Dextrose und Saccharose und 1½% Agar stellt einen ziemlich guten, festen Nährboden dar. Das Wachstum aller unserer Pneumokokkenstämme war zwar nicht so üppig wie auf dem üblichen Blutagar, aber in allen Fällen ganz deutlich. Alle charakteristischen Merkmale der Pneumokokken-Lösbarkeit in Galle, Gramfärbbarkeit und Pathogenität) blieben gut erhalten. Wir haben Untersuchungen durchgeführt, bei denen die Pneumokokkenkultur vom üblichen Blutagar mit der von unserem Ersatzmedium hinsichtlich der Agglutinierbarkeit verglichen wurde. Unsere Kaninchensera (Stämme anti-I, -II u. -III) haben die Pneumokokken der beiden Herkunft agglutiniert, und auch der Titer erwies sich als gleich.

Ein noch viel besseres Wachstum erzielt man, wenn man zu dem Medium in üblicher Weise 10% Blut zusetzt. Letzteres steht in den entsprechenden Anstalten meist zur Verfügung, während Fleisch und Pepton immer kostspielig sind. Kartoffel, Mohrrübe und Hefe sind dagegen billige Materialien. Wir glauben berechtigt zu sein, das beschriebene Medium als einen guten und billigen Ersatznährboden zu betrachten.

Antagonismus der Pneumokokkenstämme.

Wir wollten wissen, ob unsere biotisierten Medien für alle Pneumokokkenstämme gleichwertig sind oder ob in dieser Hinsicht Unterschiede bestehen. Natürlich wären auffallende Unterschiede schon am Trübungsgrad der Bouillon erkennbar. Wir haben aber eine empfindlichere Methode benutzt, die uns auch geringe Unterschiede klar macht. Wir haben nämlich die Bouillon gleichzeitig mit zwei Pneumokokkenstämmen, und zwar mit den Stämmen I und II, geimpft. In der Biologie muß man nämlich physiologische und ökologische Bedingungen unterscheiden. An einem Beispiel sei dies erläutert. Wir haben uns mit dem Schicksal der Süßwassermikroben im Meere beschäftigt. Es läßt sich konstatieren, daß die Süßwassermikroben die Seewassermedien manchmal ganz gut vertragen, aber nur wenn sie in Reinkultur leben. Im Zusammenleben mit den angepaßten Seemikroben werden sie von denselben

verdrängt. Ein anderes Beispiel beschreiben wir in unserer Arbeit über die Kultur von Spirogyra in den Bakterienaufschwemmungen. Eine Alge kann in Reinkultur bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen leben. Man spricht von der biologischen Breite. In der Mischkultur der Algen wächst am besten die, die ihr Optimum bei der gegebenen Wasserstoffionenkonzentration hat.

Wir haben unsere Mohrrübenbouillon mit den oben erwähnten Stämmen gleichzeitig geimpft. Diese Mischkultur haben wir mehrmals in Abständen von jeweils 24 Std. überimpft. Bei der ersten Impfung ist das Verhältnis der beiden Stämme praktisch I : I. Bei gleicher Lebensfähigkeit der beiden Stämme bleibt das Verhältnis unverändert. Sollte das Medium für einen der Stämme geeigneter sein als für den anderen, so wird sich das Verhältnis bei jeder Überimpfung zugunsten des Stammes, der im Vorteil lebt, ändern. Es kann bis zur völligen Verdrängung des im Nachteil lebenden Stammes führen.

Nach einigen Überimpfungen in die flüssigen Medien haben wir mit der Mischkultur Petrischalen mit Kartoffel-Mohrrüben-Hefeagar geimpft. Die junge Kultur wurde mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und es wurde eine Agglutinationsprobe vorgenommen. Um gut vergleichen zu können, mußten wir vier Titer feststellen: 1. den Agglutinationstiter des Stammes I mit dem Serum Anti-I, 2. den Titer des Stammes II mit dem Serum Anti-II, 3. den Titer der Mischkultur mit dem Serum Anti-I, 4. den Titer der Mischkultur mit dem Serum Anti-II. Als Voraussetzung gilt, daß die beiden Sera vollkommen spezifisch sind, was auch der Fall war.

Als Resultat konnten wir konstatieren, daß unsere Ersatzmedien für beide Stämme ein gleichwertiges Medium darstellen.

Zusammenfassung.

1. Gewöhnliche Rindfleischbrühe läßt sich durch Mohrrübenzusatz biotisieren, so daß sie zur Pneumokokkenkultur geeignet wird.

2. Ebenso guten Erfolg kann man mit Hefen erzielen.

3. Noch besser wird das Medium, wenn es gleichzeitig mit Mohrrübe und Hefe biotisiert wurde.

4. Kartoffel-Mohrrüben-Hefeextrakt mit Agar stellt ein gutes und billiges Ersatzmedium dar. Zusatz von 10% Blut macht es dem üblichen Pepton-Fleischwassermedium gleichwertig.

5. Die biotisierte Rindfleischbrühe ist ein gleich gutes Medium für die untersuchten Pneumokokkenstämme I und II, denn in Mischkultur wird keiner von ihnen verdrängt.

Literatur.

Bergey, D. H., Manuar of determinative Bacteriologie. London 1930. — Dostál, R., Rostlinné hormony. Prag 1940. — Kaufmann, F., Bjornbie, M., und Vanmen, B., Über die Herstellung und Bewertung von Kanninchen-Pneumokokken-Seren. (Ztschr. f. Hygiene. 1938.) — Kořínek, J., Über Süßwasserbakterien im Meere. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 66. 1925.) — Kořínek, J., Über die Bakteriensymbiose der Oscillatorien. (Archiv f. Protistenkunde. Bd. 64. 1928.) — Kořínek, J., Sur la culture de la Spirogyra dans des suspensions bactériennes. (Vest. Král. ces. spol. nauk. 1929.) — Kořínek, J., Über oligonitrophile Mikroben im Meere. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932.) — Vancura, J., Pokusy kultivace bakterii na pudách ze Soji. Prag 1941.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Kotte, W., Krankheiten und Schädlinge im Obstbau und ihre Bekämpfung. Berlin (Verl. Paul Parey). 296 S., 193 Textabb. u. 8 Farbtaf. Geb. 16 RM.

Das sehr übersichtlich gestaltete Buch behandelt im einzelnen folgende Sachgebiete: Wirtschaftliche Bedeutung des Pflanzenschutzes im Obstbau, wobei vor allem auf die Notwendigkeit und die Möglichkeit einer beträchtlichen Leistungssteigerung im Obstbau hingewiesen wird. — Die Ursachen der Schäden an den Obstgehölzen sind eingeteilt nach pflanzlichen und tierischen Schädlingen, Viren als Krankheitsursache, Schäden durch unbelebte Umwelteinflüsse wie Klima, Bodenverhältnisse, schädliche Chemikalien. Das letzte Kapitel ist für eine sachgemäße Bekämpfungstechnik von besonderer Bedeutung. — In dem umfangreichen Abschnitt: Die Krankheiten und Schädlinge der Obstarten werden die Krankheitsbilder und ihre Erreger im besonderen dargestellt, eingeteilt nach pflanzlichen Schädlingen, die an mehreren Obstarten vorkommen, desgleichen tierische Schädlinge, hinzu kommen Pilzkrankheiten und Schädlinge an einzelnen Obstarten: Kernobst, Steinobst, Schalenobst, Weinrebe, Beerenobst. Die Bekämpfungsmaßnahmen werden jedesmal nach dem neuesten Stand besprochen. — Ein weiteres Kapitel betrifft die Schädlingsbekämpfung im Obstbau unter allgemeinen Gesichtspunkten, wobei auf die verschiedenen Pflanzenschutzmittel, Vorsichtsmaßregeln bei der Anwendung giftiger Mittel, Spritzgeräte, sowie die praktische Durchführung der obstbaulichen Schädlingsbekämpfung hingewiesen wird. — Ein Bestimmungsschlüssel der wichtigsten Obstbaumkrankheiten und Schädlinge hilft die Ursachen erkennen. — Zu eingehenderer Orientierung über den Pflanzenschutz im Obstbau sind für den Praktiker die wichtigsten Schriften verzeichnet. — Das ganze Sachgebiet ist alphabetisch geordnet.

Das Buch gibt leichtverständlich und doch sachlich und interessant dem Obstzüchter wertvolle Winke zur Steigerung des Ertrages. Auch für den Obstbaulehrer, den beratenden Stellen des Pflanzenschutzes, sowie für die Industrie, die sich mit der Herstellung von Bekämpfungsmitteln zu befassen hat, bieten die langjährigen reichen Erfahrungen des Verf.s wertvollen Rat. Das Buch kommt gerade in der Zeit der wirtschaftlichen Ausnutzung aller Kräfte für die Erzeugungsschlacht besonders erwünscht.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Goetsch, W., Vergleichende Biologie der Insektenstaaten. Bd. 4 der Probleme der Biologie. Herausgeg. von Erich Ries und Karl Wetzel. 440 S., 93 Abb. Leipzig (Akademische Verlagsgesellschaft Becker und Erler, KG.) 1940. Preis geb. 27, brosch. 25 RM.

Das Buch von Goetsch ist eine vergleichende Darstellung der Biologie von den Bienen-, Ameisen- und Termitenstaaten. Der Verf. hebt richtig hervor, daß bei dem beschränkten Umfang einzelne Punkte, die einen Vergleich gestatten, herausgegriffen werden mußten. Nach einer kurzen, allgemein orientierenden Einführung werden die Vorstufen des staatlichen Lebens behandelt: solitäre Bienen mit besonderen Brutpflege-Instinkten überführend zu den Anfängen einer sozialen Zusammengehörigkeit, wobei ein gewisses „Solidaritätsgefühl“ in der Ausbildung von Schlafgesellschaften zu erkennen ist. Die „Familiengemeinschaften“ nehmen bereits eine höhere Stufe ein, von einfachen Formen ausgehend, werden die Verhältnisse der

Hummelstaaten, dann die der Faltenwespen und der stachellosen Bienen geschildert. Der Hauptteil des Buches beschreibt die Staaten der Bienen, Ameisen und Termiten, wobei eine Einteilung getroffen ist nach Aufbau und Lebensablauf der Staaten. Beim Aufbau der Staaten werden dargelegt: Lebensraum und Körpergestalt, Behaarung und Ernährung, Sinnesleben und Umwelt, Freundschaft und Feindschaft. Im Abschnitt Lebenslauf der Staaten wird Bezug genommen auf das Entstehen und Wachsen der Staaten, die Aufnahme der Tätigkeit (Erkundung des Geländes, Alarm, Kennzeichnen der Wege), ferner Rhythmus der Arbeit und schließlich Altern und Vergehen der Staaten. Die wichtigeren verwendeten Arbeiten sind zum Teil in einem Schriftenverzeichnis zusammengestellt. Ein Sachverzeichnis ist beigefügt. Gut ausgewählte Abbildungen veranschaulichen den übersichtlich zusammengestellten Text. Das Werk von Goetsch erfüllt meisterhaft die Aufgabe, das in neuerer Zeit wieder besonders wach gewordene Interesse für das Leben der sozialen Insekten in anschaulicher und sachlich einwandfreier Weise zu befriedigen.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Allgemeines und Methodisches.

Knöll, H., Filtrationsversuche mit einem neuen Gerät zur Bakterienfiltration. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1940. S. 274—283.)

Es wird ein Gerät zur Bakterienfiltration mit Jenaer Ganzglas-Bakterienfiltern G 5 auf 3 beschrieben, das durch seine Konstruktion mit Sicherheit eine Fremdinfektion des Filtrates zu verhindern gestattet. Filtrationsversuche mit Filtern, deren maximale Porenweite nach einem Standardverfahren zwischen 1,7 und 1,0 μ lag, ergaben keinerlei Anhaltspunkte für das Vorhandensein filtrierbarer Bakterienformen bei Bact. prodigiosum, vulgare, Spir. parvum und bei einer gelben Sarzine. Diese Ergebnisse gelten aber, worauf auch besonders hingewiesen wird, nur unter den gewählten Bedingungen. Bei der Vielzahl der für die Entstehung filtrierbarer Formen offenbar maßgeblichen Faktoren sind anscheinend widersprechende Resultate verschiedener Autoren nicht verwunderlich.

Rodenkirchen (Dresden).

Meyer, R., Wieweit ist das Kaltsterilisationsverfahren Schweizers wirksam? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1940. S. 296—304.)

Die Wirksamkeit der von Schweizer angewandten Agenzien hängt ab von der Konzentration des Agens und — vor Überschreiten einer Mindestzeit — von der Dauer der Einwirkung. Die Konzentration kann durch einen Kunstgriff vergrößert werden, nämlich durch Erhöhung des Partialdruckes dieser flüchtigen Substanzen durch Evakuieren des Reaktionsgefäßes. Von den nachgeprüften Agenzien erwies sich Chloroform am wirksamsten. Aber auch dieses überwindet nur die Keime der Thermoresistenzstufe I nach Konrich (alle vegetativen Keime). Dazu kommt, daß die Nährböden durch Chloroform teilweise schon makroskopisch erkennbare Veränderungen erfahren (Blutplatten z. B. bekommen eine irreversible braune Verfärbung), was das Verfahren ja gerade verhindern soll. Das Verfahren Schweizers hat also nicht den Wert eines Sterilisationsverfahrens, sondern kann nur als Desinfektionsverfahren mit von Mittel zu Mittel wechselnder Wirksamkeit angesprochen werden.

Rodenkirchen (Dresden).

Ssolntzewa, L. I., Methoden zur Kultivierung der Myxobakterien. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 8. 1939. S. 959—964.) [Russ.]

Gute Resultate erzielte man mit der Methode von Krzemieniewski: ausgewässerter Kaninchenmist wird in Schalen von Koch auf der Erde verteilt und unter Anfeuchtung bei einer Temperatur von 25—30° gelagert; Myxobakterien (meist Myxococcus) erscheinen auf der Mistoberfläche am 6.—12. Tage. Reine Kulturen von Chondromyces aurantiaca und Melithangium boletus erhält man auf 10proz. Stallmistbouillon mit 1% Agar und 0,5% löslicher Stärke.

M. Gordienko (Berlin).

Gibschman, M., Bannikowa, L. und Derjabina, E., Der Einfluß von verschiedenen Trocknungs- und Aufbewahrungsmethoden der Kulturen auf die Eigenschaften der Milchsäurestreptokokken. (Milch-Ind. SSSR. 1940. Nr. 8. S. 5—9.) [Russisch.]

Bei der Trocknung der Kulturen verändern Milchsäurestreptokokken ihre Eigenschaften: bei Str. paracitrovorus 116 wurde die Bildung von flüchtigen Säuren von 24,2 (Destillationszahl) auf 12,5—5,6 herabgesetzt, bei Str. paracitrovorus 18 von 29,2 auf 9,0. In bezug auf Säurebildung erwiesen sich alle Kulturen nach der Trocknung aktiver als vor dieser; dasselbe gilt auch in bezug auf die Bildung von Acetoin, Alkohol, Äther und Kohlensäure. Die aus der Kultur Str. cremoris U W 3/24 isolierten Stämme erwarben nach der Trocknung die Fähigkeit, Saccharose, Maltose und Dextrin zu vergären; nach 2monatiger Lagerung bei einer Temperatur von 8—10° verloren sie jedoch diese Fähigkeit in bezug auf Saccharose. Weiter können die Eigenschaften der Kulturen (z. B. in bezug auf Vergärung der Kohlenhydrate) durch Zusatz von $CaCl_2$ bzw. von Labferment zur Milch verändert werden. Als beste Trocknungsmethode (nach der Menge der am Leben bleibenden Zellen) erwies sich die im Vacuumtrockenschranke bei einer Temperatur von 40° C im Laufe von 1—1½ Std. bei 5—10 mm Quecksilberdruck. *M. Gordienko (Berlin).*

Schubert, H., Das Wesen der Desinfektionsresistenz von vegetativen Bakterienformen und ihre Spontanschwankungen. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 125. 1941. S. 194—238.)

Die Reaktionsfähigkeit des Lebensträgers eines Bakteriums, der „Akzeptor" genannt wird, gegenüber Desinfizientien wird von einer Reihe von Faktoren beeinflußt. In erster Linie spielen dabei eine Rolle die Vorkultur, deren Konsistenz und namentlich die Art des verwendeten Peptons. Die Verschiedenheit der Reaktionsfähigkeit des „Akzeptors" verschiedener Stämme einer Bakterienart kann ebenso groß sein wie die verschiedener Arten. Weiter bestimmt das Desinfiziens die Reaktionsgeschwindigkeit weitgehend. Weniger bedeutsam ist dagegen das Alter der Bakterienzelle, woraus folgt, daß der Lebensträger als konstante, kaum veränderliche Einheit gelten muß.

Die Reaktionsfähigkeit scheint in quantenhaft ganzzahligen Sprüngen zu variieren, d. h. der „Akzeptor" besitzt eine quantenhaft variable Bindungsaffinität.

Je nach Umständen sind auch die nebengeordneten Teile des Bakterienleibes von Bedeutung für die Wirkung des Desinfiziens; sie reagieren in Form der Hemmung. Daneben beeinflussen Agglutinationsvorgänge den Verlauf

der Absterbekurve erheblich. Die Trennung aller dieser Einflüsse gelingt durch Anwendung der statistischen Analyse bei Zugrundelegung der modifizierten Gleichung der monomolekularen Reaktion.

Zeitliche Einflüsse verursachen ebenfalls beträchtliche Schwankungen der Versuchsergebnisse. Insbesondere war in den durchgeführten Versuchen die Existenz zweier 27- bzw. 28tägiger Rhythmen zu erkennen, deren Ursache aber nicht geklärt werden konnte. Es handelte sich dabei offenbar um tagesgebundene Einflüsse auf den Absterbevorgang selbst. Auch an einzelnen Tagen können ungleichmäßige Versuchsergebnisse vorkommen.

Rodenkirchen (Dresden).

Pels Leusden, F. und Derlich, R., Bakterien- und Sporen-abtötende Wirkung des Lebertrans. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1940. S. 284—296.)

Medizinallebertran und Vigantollebertran wirken auf direkt eingebrachte Bakterien abtötend, und zwar Vigantollebertran stärker als Medizinallebertran. Es wird vermutet, daß die stärkere Wirkung des Vigantollebertrans mit dem höheren Vitamingehalt in Beziehung steht. Selbst Sporen wurden abgetötet, Mycoidessporen z. B. schon innerhalb von 5 Min., Pseudomilzbrandsporen dagegen erst nach Tagen.

Gegenüber wässerigen Bakterienaufschwemmungen blieb Lebertran ohne merkliche Wirkung, weil sein bakterien-abtötendes Prinzip (Fettsäuren und andere Kräfte) in Wasser nicht löslich ist. *Rodenkirchen (Dresden).*

Jegorowa, A. A., Über die Widerstandsfähigkeit thermophiler Bakterien gegen Erwärmung. (Berichte d. Akad. d. Wiss. SSSR. Bd. 28. Nr. 7. 1940. S. 660—662.) [Russisch.]

Die in Autoklaven bei 1 Atü im Laufe von 20—30 Min. sterilisierten Fleisch-Pepton-Substrate mit Agar verschiedener Herkunft blieben bei Temperaturen von 14—35° steril, in den unmittelbar nach Sterilisation in Thermostaten bei 54—75° gelagerten Substraten konnten aber nach einiger Zeit Bakterienkolonien festgestellt werden. Eine der isolierten Formen wird beschrieben. Es wird auf die Notwendigkeit hingewiesen, die Sterilität der Agarböden nicht nur bei 37°, sondern auch bei höheren Temperaturen (60—70°) nachzuprüfen. *M. Gordienko (Berlin).*

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Piekarski, G., Über kernähnliche Strukturen bei Bacillus mycoides Flügge. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 406—431.)

Die an Bacillus mycoides ausgeführten Untersuchungen mit Hilfe der Feulgenschen Nuklealreaktion führten den Verf. zu dem Schluß, daß in jedem Stadium der Entwicklung nuklealpositive Körner vorhanden sind, die er früher schon „Nukleoide“ genannt hat; diffuse Verteilung der nuklealpositiven Substanz hat er bei lebensfähigen Zellen nicht gesehen. In der lebensfähigen Zelle finden sich zwei dieser Körner (oder ein Mehrfaches davon), von denen eines in die Spore eingeht, das andere zugrunde geht. Verf. gibt auch an, daß das nuklealpositive Korn in der Spore dadurch sichtbar gemacht werden kann, daß die Hydrolysezeit auf 30—35 Minuten erhöht wird oder daß man die Sporen vor Anstellung der Reaktion in frische Nährlösung bringt und quellen läßt. Kurz vor der Keimung teilt

sich das Nukleoid, so daß das austretende Keimstäbchen die Normalzahl von 2 Nukleoiden besitzt.

Der Verf. bestätigt somit im wesentlichen die von Stille gegebene Darstellung und steht im Gegensatz zu den von Pietschmann-Rippel und Schaede gemachten Angaben. Es bleibt jedoch nach Meinung des Ref. immer noch die Frage offen, wie die von den letztgenannten Autoren zweifellos gesehene diffuse Verteilung der nuklealpositiven Substanz zustande kommt, bzw. wenn die Angabe von Stille richtig ist, daß es sich um ein Kunstprodukt infolge zu starker Hydrolyse handele, wie es kommt, daß diese diffuse Verteilung von den genannten Autoren, aber niemals von dem Verf. der vorliegenden Abhandlung gesehen wurde. Somit ist die Zellkernfrage der Bakterien immer noch nicht gelöst. *Rippel (Göttingen).*

Wolfson, I. A., Vergleichende biochemische Untersuchungen von Granulobacter pectinovorum und Bac. felsineus. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 6. 1939. S. 643—655.) [Russisch.]

Bac. felsineus stellt eine der Übergangsformen zwischen den typischen Acetobutylbakterien, wie Clostridium acetobutylicum, und typischen Buttersäurebakterien, wie Granulobacter pectinovorum, dar. Möglich ist, daß Granulobacter pectinovorum eine degenerierte Form des Bac. felsineus darstellt, bzw. daß Bac. felsineus aus dem Granulobacter pectinovorum entstand, indem sich seine Eigenschaften im Evolutionsgange verstärkten. Die Kultur Nr. 1758 steht den Buttersäurebakterien näher; sie vergärt intensiver als Granulobacter pectinovorum, auch vergärt sie mehr Zucker und ergibt höheren Säuregehalt. Mischkulturen von Granulobacter pectionvorum + Nr. 1758 zeitigten eine Verschiebung in Richtung der Buttersäuregärung sowie eine Herabsetzung der Gärungsintensität und Pigmentschwächung. *M. Gordienko (Berlin).*

Melinikowa, A. A. und Butkewitsch, W. S., Biochemische Bildung der Oxalsäure. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 7. 1939. S. 818—826.) [Russisch.]

Versuche mit Aspergillus niger auf Rohrzucker, Glukose, Fruktose und Saccharose hatten folgende Resultate: Zugabe von $MgSO_4$ (in Mengen von 0,1% mit 6% Na_2HPO_4) aktiviert stark die Anhäufung von Oxalsäure. Unter diesen Bedingungen bilden sich maximale Mengen von Oxalsäure (3 Moleküle Oxalsäure auf 1 Molekül Zucker). Der Prozeß geht ohne vorherige Spaltung nach dem Typ der Alkoholgärung vor sich.

M. Gordienko (Berlin).

Perwozwanski, W. W. und Iwaschkewči, M. A., Bildung von Glukonsäure durch fluoreszierende Bakterien. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 6. 1939. S. 663—671.) [Russisch.]

Die Untersuchung erstreckte sich auf 5 Stämme fluoreszierender Bakterien, die bei der Oxydation von Glukose Glukonsäure bilden: Bact. fluorescens Nr. 18, Bact. puditum Nr. 31, Bact. syncyoneum Nr. 44 und Nr. 46 und Bact. cyaneo-fluorescens Nr. 47. Die aktivsten Stämme: Bact. puditum Nr. 31 und Bact. cyaneo-fluorescens Nr. 47 verwerteten Glukose vollständig schon im Laufe von 5—7 Tagen, während Bact. syncyo-

neum Nr. 46 im Laufe derselben Zeit nur $^{2}/_{3}$ der Glukose zu verwerten vermochte, und Bact. fluorescens Nr. 18 die geringste Aktivität zeitigte. Die Bildung von Ca-Glukonat betrug bei den untersuchten Stämmen 54,1—91,4% der verwerteten Glukose. Die Periode der maximalen Anhäufung von Ca-Glukonat tritt erst nach dem 3. Tage ein und verlangsamt sich dann bis zum Ende infolge Mangels an Glukose.

M. Gordienko (Berlin).

vor dem Esche, P., Über das Vorkommen schleimiger Colibazillen. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 125. 1940. S. 118—126.)

Von den im Stuhl gefundenen Schleimbildnern entfielen nur 10% auf Bact. lactis aerogenes, meist handelte es sich um Coli-Varianten. Sie kamen bei Darmkranken in erheblich stärkerem Umfang vor als bei Gesunden. Pathologische Eigenschaften besitzen sie zwar nicht, doch deutet ihr starkes Auftreten auf abnorme Lebensbedingungen für Colibakterien infolge Erkrankung des Darmes. Es gibt auch paraagglutinable, schleimig wachsende, coliähnliche Keime, die fast ausschließlich bei Darm-, insbesondere bei Ruhrkranken, gefunden werden.

Beim Weiterzüchten eines schleimigen Colikeimes kam es durch Phagenwirkung zur Entstehung einer Rauhform von krausem, blumenkohlartigem Aussehen. *Rodenkirchen (Dresden).*

Schmidt-Lang, W. und Hepp, W., Untersuchungen über Filtrierbarkeit an Bakteriophagen, Lyssavirus und Diphtheriebazillen. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 125. 1940. S. 53—63.)

Zum Zwecke der Größenbestimmung kleinster Lebensformen wurden Filtrationen durch Membranfilter vorgenommen. Unter der Voraussetzung annähernder Kugelgestalt der Teilchen, die noch nicht als widerlegt erklärt wird, wurden folgende Werte ermittelt:

für Bakteriophagen (Mikrokokken-, Typhusbakterien-, Ruhrbakterien-Phagen) 30—60 $\mu\mu$,

für ein Lyssavirus 125—185 $\mu\mu$,

für Kleinformen von Diphtheriebakterien 200—700 $\mu\mu$.

Das Vorkommen von Diphtheriebakterien-Kleinformen bestätigt in gewissem Umfang die Auffassung von Gróh, daß das Diphtheriebakterium bei der Vermehrung in viele kleine Segmente zerfallen kann. Die Bezeichnung „Ultravirus“ (Calmette) wird als unrichtig abgelehnt, weil Virus-Arten und Bakteriophagen sich — im Gegensatz zu den Bakteriensplittern — nur bei Gegenwart lebender Zellen vermehren können.

Rodenkirchen (Dresden).

Rabotnowa, I. L., Stickstoffixation durch Knöllchenbakterien. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 9/10. 1939. S. 1151—1167.) [Russisch.]

Unter anaeroben Bedingungen beträgt rH in sterilem Zycha-Nährboden 24,8, beim Bakterienwachstum geht rH auf 12,5—14,0 zurück. Dies weist darauf hin, daß die Bakterien nicht nur aus dem Nährboden O_2 nehmen, sondern auch irgendwelche Stoffe ausscheiden, die rH herabsetzen. Knöllchenbakterien auf Nährböden mit Kohlehydraten besitzen die Fähigkeit, rH bis auf 7—8 zu reduzieren. In den durch hohe Temperatur abgetöteten Kleewurzeln mit lebenden oberirdischen Teilen ging keine Stickstoffassimilation vor sich; somit sind in der Pflanze selbst keine Profermente der

Stickstoffixation vorhanden. Die Schlußfolgerung geht dahin, Bakterien in Kultur binden Stickstoff sehr langsam, die Pflanze liefert ihnen irgendeinen Stoff, der die Reaktion beschleunigt. *M. Gordienko (Berlin).*

Imschenetzki, A. A. und Bojarskaja, B. G., Mikrobiologie der anaeroben Zellulosezersetzung. III. Gärung der Zellulose als symbiotischer Prozeß. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 6. 1939. S. 657—662.) [Russisch.]

Auf den Zellulose und Pepton bzw. mineralischen Stickstoff enthaltenden Substraten können sich thermophile Zellulosebakterien nur unter Symbiose mit anderen Bakterien entwickeln. Die Rolle der Begleitmikroflora besteht darin, das Substrat mit komplizierten Stickstoffverbindungen für anaerobe Bakterien anzureichern und das Oxydations-Reduktions-Potential des Substrates herabzusetzen. *M. Gordienko (Berlin).*

Rotmistrow, M. N. und Scharojko, K. M., Untersuchung thermophiler Zellulosegärung. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 7. 1939. S. 806—816.) [Russisch.]

Aus verschiedenen Stallmist- und Bodenproben wurden 38 elektive Bakterienkulturen thermophiler Zellulosegärung und aus einer von diesen eine reine Kultur isoliert. Zweijährige Beobachtungen bei der Zellulosevergärung zeigten, daß diese durch reine Kultur energischer verläuft und größere Stabilität aufweist als die durch elektive Kulturen; die Gärprodukte sind jedoch in den beiden Fällen die gleichen. Die durchschnittliche Ausbeute an Äthylalkohol stellte sich auf 7—10% der vergärten Zellulose, die an Ameisensäure auf 2—3%, an Essigsäure auf 25—50%, an Milchsäure auf 2—5% und an Buttersäure auf 6—25%. Die Alkoholausbeute wird durch die Reaktion bedeutend beeinflußt, sie erreicht ihr Maximum bei $p_H = 7,4$ bis 7,8. Von verschiedenen Neutralisationsmitteln erwiesen sich am besten $MgCO_3$ und $CaCO_3$, Kreide erwies sich als wenig geeignet. Unter anaeroben Bedingungen ging die Gärung nicht besser vor sich als bei der Kontrolle. *M. Gordienko (Berlin).*

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Giesecke, F. und Tseretheli, O. v., Über die Verwertung des Hexamethylentetramins durch Bodenmikroorganismen als Beitrag zur Frage der Formalinkonservierung des Harns und der Jauche. (Bodenkunde u. Pflanzenernährung. Bd. 21/22. 1940. S. 408—416.)

Da bei der Konservierung der Jauche mittels Formalin Hexamethylentetramin entsteht, wurde dessen Einfluß gegenüber Reinkulturen von einigen häufig im Boden vorkommenden Mikroorganismen geprüft. Auf Bakterien war eine Einwirkung in Nährlösungen bis zu einer Hexamethylentetramin-Konzentration von 5% nicht erkennbar. Bei 6% wurden vegetative Zellen abgetötet, Sporen dagegen erst bei 11% (Bac. mycoides) und über 12% (Bac. megaterium). Hexamethylentetramin erwies sich für die untersuchten Bakterien (Bact. pyocyaneum, fluorescens, vulgare, Bac. mycoides, megaterium) als gute Stickstoffquelle, als Kohlenstoffquelle konnte es jedoch nicht verwertet werden. Pilze dagegen konnten es auch als Energiequelle verwenden; Entwicklung fand zum Teil noch bei einer Konzentration bis zu 11% statt. Versuche mit Actinomyceten fielen wegen Fremdinfektion aus.

Bei Zusatz zu Boden wurde das Hexamethylentetramin innerhalb von 6 Tagen vollständig ammonifiziert. Das abgespaltene Formaldehyd hemmte 34 Tage lang die Nitrifikation, was in seiner Ursache noch geklärt werden soll. Die Bodenmikroben erfuhren im übrigen eine starke Zunahme; die Zahl der Bakterien stieg von 85 auf 465 Millionen, die der Pilze von 0,3 auf 2,7 Millionen. Der Hexamethylentetramin-Zusatz führte weiter zu einem Anstieg des p_H-Wertes; er wurde durch das Hexamethylentetramin selbst oder — was wahrscheinlicher ist — durch die später einsetzende Nitratbildung verursacht. Nach der Zersetzung ging der p_H-Wert auf den ursprünglichen Stand zurück. *Rodenkirchen (Dresden).*

Jegorowa, A. A., Thermophile Bakterien in arktischen Gebieten. (Ber. d. Akad. d. Wiss. SSSR. Bd. 19. Nr. 8. 1938. S. 647—649.) [Russisch.]

Untersuchungen der Bodenproben von Inseln des Karischen Meeres sowie von den dortigen Meeresgrundsedimenten zeigten, daß in dieser thermophile Bakterien gegenwärtig sind. Diese entwickelten sich bei Aussaaten auf Fleisch- und Malzagar sowie auf Bouillon bei 60—80°. *M. Gordienko (Berlin).*

Pontowitsch, W. E., Die Bedeutung des Wechsels der Aerationsbedingungen beim Humifizierungsprozeß pflanzlicher Reste. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 8. 1939. S. 965—973.) [Russisch.]

Unter anaeroben Bedingungen zersetzen sich pflanzliche Reste viel langsamer als unter aeroben. Bei vorhergehender teilweiser Zersetzung von Eriophorum und Sphagnum unter aeroben Bedingungen ging dann der restliche Zersetzungsprozeß unter anaeroben Bedingungen rascher vor sich. Die Zersetzung von Lignin ging im Laufe der ersten 10 Monate fast so schnell vor sich wie die von Zellulose; im Laufe von weiteren 10 Mon. häufte sich Lignin (besonders bei Sphagnum) an. Bei Zersetzung von Eriophorum fand eine bedeutende Anhäufung von Humin-Stickstoff, bei der von Sphagnum dagegen eine Minderung von Humin-Stickstoff statt (verglichen mit dem Ausgangsmaterial). Sphagnumzellulose und Hemizellulose sind sehr widerstandsfähig gegen Mikrobenwirkung. Die Zersetzung von Sphagnum und Eriophorum wird durch Steigerung des prozentualen Gehalts an Kohlenstoff und der spezifischen Verbrennungswärme begleitet, was auf einen Zusammenhang zwischen dem Humifizierungs- und „Inkohlungsprozeß" hinweist. *M. Gordienko (Berlin).*

Mischustin, E. N. und Bacharjewa, S. I., Bodenazidität als der das Erscheinen von inaktivem Azotobakter im Boden bestimmende Faktor. II. Experimentelle Erhaltung von inaktiver Form des Azotobakters (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 9/10. 1939. S. 1063—1071.) [Russisch.]

Bei Einbringung einer aktiven Azotobakterrasse in angesäuerten bzw. von Natur aus saueren Boden (mit p_H = 4,0—5,0) wird die Rasse inaktiviert. Schon nach kurzem Verbleiben in solchem Boden verliert Azotobakter die Fähigkeit, auf gewöhnlichen Gelnährböden zu wachsen, bildet jedoch Kolonien auf Bodenplättchen. Inaktivierte Azotobakterkulturen besitzen stark verminderte Fähigkeit, gasförmigen Stickstoff zu fixieren, und entwickeln sich nur auf Nährböden mit Stickstoffverbindungen; bei längerer Kultur auf

mannithaltigem Nährboden wird jedoch die stickstoffixierende Fähigkeit teilweise wiederhergestellt. *M. Gordienko (Berlin).*

Jegorowa, A. A. und Sokolowa, O. A., Untersuchungen des Heilschlammes und Mineralwassers aus dem See Kok-Tschag (Turkmenien). (Mikrobiologie. Bd. 9, Folge 5. 1940. S. 491—493.) [Russisch.]

Im Heilschlamm und in der Salzlake aus dem See Kok-Tschag wurden folgende Mikroorganismen festgestellt: die Sulfate reduzierende Mikrospira sowie Thiobakterien (Thiobacillus thioparus f. Tambi Iss.) u. a. *M. Gordienko (Berlin).*

Issatschenko, B. L. und Jegorowa, A. A., Über „Bakterienplatten" im Schwarzen Meer. (Samml., gewidmet N. M. Knipowitch. Moskau 1939. S. 47—57.) [Russisch.]

Die seinerzeit von M. Jegunow ausgesprochene Ansicht über die Gegenwart von einer „Bakterien-Platte" (von Schwefelbakterien) im Schwarzen Meer in einer Tiefe von etwa 200 m, die eine vollständige Oxydation von H_2S bewirkt, findet keine Bestätigung. Vielmehr kann die H_2S-Oxydation durch vertikale Zirkulation der oberen Wasserschicht (d. h. durch O_2 des Wassers) stattfinden. Weiter wird auf manche Widersprüche in der von M. Jegunow aufgestellten Theorie hingewiesen. *M. Gordienko (Berlin).*

Issatschenko, B. L., Purpurschwefelbakterien aus den unteren Grenzen der Biosphäre. (Sonderdruck a. d. Samml. „Akad. d. Wiss. SSSR. — dem Präsidenten W. Komaroff". 1939. S. 320—330.) [Russisch.]

In Gewässern aus einer Tiefe von 1700 m (wahrscheinlich auch darüber) sind Purpurschwefelbakterien gegenwärtig, die durch ihr Pigment das Wasser rosa färben. Die isolierten Arten gehören den Thiorhodaceae und Athiorhodaceae an. Es wird angenommen, daß Purpurbakterien in den die Naphta begleitenden Gewässern als relikte Organismen vorkommen. Ihre Entwicklung konnte auf Kosten der organischen Stoffe (Naphta usw.) vor sich gehen, wobei Gewässer durch Oxydation von H_2S mit erhöhten Sulfatmengen angereichert wurden. Die untere Grenze der Biosphäre kann auf 2000 m gesetzt werden, jedoch erstreckt sie sich in Wirklichkeit wahrscheinlich noch viel tiefer. *M. Gordienko (Berlin).*

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und Viren.

Herbst, W., Wegweiser im Kampf gegen die Schorfkrankheit des Kernobstes. (Kranke Pflanze. Bd. 18. 1941. S. 8—12.)

Nach der Schilderung von Schadbild, Infektionsrhythmus und Beeinflussung der Infektion durch Witterungsfaktoren nennt Verf. die geeigneten Bekämpfungsmaßnahmen, die er in mechanische und chemisch-technische einteilt. Ein Spritzkalender veranschaulicht die Zusammenhänge zwischen den Lebensvorgängen des Baumes und den Spritzterminen. Eigenartig berührt, daß Verf. bei der heutigen Rohstofflage der Blauspritzung mit 4—6 oder 3—4% Kupferkalk so große Bedeutung beimißt. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Wenzl, H., Zwergwuchs des Kopfsalats, Lactuca sativa var. capitata, durch Pythium-Befall. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 20—21, 3 Abb.)

Verf. berichtet über eine erstmalig von ihm 1938 beobachtete Erkrankung des Salates, die sich darin äußert, daß die erkrankten Pflanzen im Wachstum stark zurückbleiben. Äußerlich zeigen die Pflanzen nichts Besonderes. Wenn man jedoch den Strunk durchschneidet, fällt in der Zone der wasserleitenden Elemente eine streifenförmige gelbe oder bräunlichschwarze Verfärbung auf. Aus dem erkrankten Gewebe konnte ein Pythium isoliert werden. Die Artbestimmung steht noch aus. Verf. vermutet, daß es sich vielleicht um eine ähnliche oder die gleiche Krankheit handelt, die in Amerika als „stunt“ bezeichnet wird. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Rogers, C. H., The Relation of Moisture and Temperature to Growth of the Cotton Root Rot Fungus. (Journ. Agric. Res. Vol. 58. 1939. p. 701—709.)

Bei Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Feuchtigkeit auf das Wachstum des Erregers der Wurzelfäule (Phymatotrichum omnivorum [Shear] Duggar) an Baumwolle ergab sich, daß bei Lehmboden, der eine optimale Wasserkapazität von 35% besitzt, der Parasit zwischen 15 und 35% Bodenfeuchtigkeitsgehalt zu wachsen vermag. Sklerotien werden nur bis 30% gebildet. Unter 8 und über 35% Feuchtigkeit findet im Boden keinerlei Wachstum mehr statt. Das Wachstumsoptimum liegt bei 27° C, das Minimum bei 3° C und das Maximum bei 39° C. Bei höheren Temperaturen oder zu großer Trockenheit stirbt der Erreger mit seinen Sklerotien, die in einer Bodentiefe bis zu 15 cm vorkommen und dort etwa 8 Jahre lebensfähig sein können, sehr bald ab. *Röder (Berlin-Dahlem).*

Tharp, W. H., and Young, V. H., Relation of Soil Moisture to Fusarium Wilt of Cotton. (Journ. Agric. Res. Vol. 58. 1939. p. 47—61.)

Die Ansprüche des Welkeerregers Fusarium vasinfectum Atk. bei Baumwolle an Bodentemperatur und Feuchtigkeit werden in einer Anzahl von Versuchen in hierfür besonders präparierten Gefäßen im Gewächshaus untersucht. Verff. fanden hierbei, daß das Optimum des Pilzes für seinen Angriff auf den Wirt bei 80—90% des optimalen Wasserfassungsvermögens des Bodens liegt, und zwar bei einer Temperatur zwischen 23 und 32° C. Von größtem Einfluß auf die Schadwirkung durch den Erreger ist, wie aus Tabellen über die sehr anschaulichen Versuche hervorgeht, die Bodenfeuchtigkeit, während die Bodentemperatur von geringerer Bedeutung ist. *Röder (Berlin-Dahlem).*

Jegorow, G. M., Untersuchungen neuer Beizmittel gegen Leinkrankheiten. (Arb. d. Weißruss. Landw. Inst. Bd. 8 (30). 1939. S. 132—134.) [Russisch.]

Die beste Wirkung erzielte man mit „Granozan“, danach folgten „Talkarsin“ und Präparat „A 12“. Die Präparate „B 12“, von Wassiljewsky und von Dawydow erwiesen sich als weniger wirksam. *M. Gordienko (Berlin).*

Abgeschlossen am 17. Juni 1941.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 2|3.
Ausgegeben am 3. September 1941.

Zersetzung und Beurteilung von Humusdüngern und Komposten[1].

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Instituts für Bodenkunde und Pflanzenernährung, Landsberg a. d. Warthe.]

Von G. **Ruschmann**, H. **Bartram** und R. **Themlitz**[2].

Mit 12 Abbildungen im Text.

Die Erkenntnis, daß Gesunderhaltung und Fruchtbarkeit der Böden von einer sachgemäßen Humuswirtschaft entscheidend abhängen, setzt sich immer mehr durch. Im Zusammenhang damit wendet man sich neben den Maßnahmen zur Hebung der wirtschaftseigenen Düngererzeugung neuen Humusquellen zu. Die Folge davon ist, daß sich die Zahl der Humusdünger auf dem Düngemittelmarkt dauernd erhöht. Die käuflichen Humusdünger haben meist Torf als Grundstoff. Neben Komposten gelangen auch Dünger auf den Markt, deren Herstellung auf einer chemischen Behandlung des Torfes beruht. Dieser Rohstoff steht fast überall in ausreichenden Mengen und am Gewinnungsort auch preiswert zur Verfügung. In neuerer Zeit sind ferner Lignin und Braunkohle als Humusquellen in Betracht gezogen worden. Lignin fällt heute bei der Holzverzuckerung in größerer Menge an und scheint den bisherigen Erfahrungen nach als Kalk- oder Kali-Kalklignin zur Verbesserung des Bodens geeignet zu sein. Für die Bereitung von Kohlekomposten, die vereinzelt bereits in der Praxis angewendet wurden, lassen sich die staub- und grusförmigen Rückstände bei der Gewinnung und Verarbeitung der Braunkohle benutzen.

Mit der steigenden Zahl der Humusdünger wird für die landwirtschaftliche Praxis und die Wissenschaft die Frage immer dringlicher, wie ihre Wirkung auf den Boden zu beurteilen ist. Leider fehlt aber ein Vergleichsmaßstab, der den Bedürfnissen der Praxis gerecht wird. Es ist bisher keine einwandfreie Methode bekannt, die es ermöglicht, einen Humusdünger in seiner Gesamtwirkung auf den Boden schnell und sicher zu beurteilen. Der Feldversuch versagt hier, da sich die bodenverbessernde Wirkung eines Humusdüngers erst nach einer längeren Reihe von Jahren zeigt.

Wiederholt ist der Versuch gemacht worden, den Wert von Humusdüngern für die Hebung der Bodenfruchtbarkeit in zuverlässiger Weise zahlenmäßig zu erfassen. Die Wege, die dabei eingeschlagen wurden, sind sehr verschieden. Häufig steht noch die Nährstoffwirkung bei der Beurteilung von

[1]) Aus dem Arbeitskreis II/3c des Forschungsdienstes. Federführender: Professor Dr. F. Scheffer, Jena.

[2]) Unter teilweiser Mitwirkung von H. Karnahl und G. Kühlmorgen-Hille.

Humusdüngern im Vordergrund, obgleich diese keineswegs über die Humuswirkung Auskunft gibt. Der Wert dieser Dünger hängt ganz von der Frage ab, in welcher Weise sie zur Humusbildung und Humusanreicherung im Boden beitragen. Darum läßt sich auch mit den Methoden, die sich ausschließlich auf die Bestimmung des chemischen Zustandes der organischen Substanz gründen, nicht die volle Bedeutung eines Humusdüngers darstellen.

Zur Prüfung von Humusdüngern sind von O. Flieg (1) die CO_2-Entwicklung und Nitratbildung benutzt worden. Unter Zuhilfenahme eines Standard-Humusdüngers wird aus dem Produkt $CO_2 \times NO_3$ eine Wertzahl abgeleitet. Diese kann aber nur sehr bedingt für die Bewertung eines solchen Düngers herangezogen werden, da die Mineralisierung der organischen Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen in keinem direkten Zusammenhang mit der Humusbildung steht.

In neuerer Zeit haben K. Simon (2) und O. Siegel (3) die zur Charakterisierung von Humusstoffen im Boden entwickelten Verfahren mit gewissen Einschränkungen auf die organische Masse des Stallmistes angewendet (4, 5). Nach etwas abweichenden Gesichtspunkten verfährt M. Popp (6) bei der Beurteilung verschiedener Humusdüngemittel des Handels. U. Springer (7) versucht ebenfalls auf Grund der Humusbestimmungen für Böden eine Bewertung vorzunehmen, indem er viele analytische Einzeldaten über die organischen Anteile zu einem Beurteilungsschema zusammenstellt. Diese Methoden ermöglichen gewisse Rückschlüsse auf Beschaffenheit und Zustandsänderungen der organischen Substanz. Im wesentlichen wird durch sie eine Aufteilung des Humuskomplexes in Einzelfraktionen vorgenommen, die durch Löslichkeit, Oxydierbarkeit, Farbtiefe und Farbton charakterisiert sind.

Die chemische Zusammensetzung der Einzelfraktionen war bisher ebensowenig eindeutig klarzustellen wie ihre biologische Bedeutung. Vom biologischen Standpunkt aus ist eine derartige Aufteilung des Humuskomplexes als künstlich zu bezeichnen. Sie steht im Zusammenhang mit der vielleicht angreifbaren Anschauung, daß sich die organische Substanz des Bodens in zwei chemisch und biologisch verschiedene Stoffgruppen mit wechselndem Mengenverhältnis trennen läßt, nämlich in „Dauerhumus“ und „Nährhumus“ (8). Ähnliche Gedankengänge verfolgt F. Bach (9), der die Humusdünger nach ihren Wirkungen auf das Pflanzenwachstum im Gefäßversuch prüfte und dabei den Beziehungen zwischen dem Kohlenstoffgehalt des „Bakterienhumus“ C_b und den beobachteten Erntedepressionen eine entscheidende Bedeutung beimaß. Aufgabe der biologischen Forschung wäre es, festzustellen, ob die heute übliche Trennung der Humusbestandteile mit den natürlichen Verhältnissen in Einklang steht, d. h. einer Kritik von biologischer Seite standhält.

Ein einheitliches Bild von der Gesamtwirkung der Humusdünger und der Vielgestaltigkeit der damit verknüpften Vorgänge im Boden kann nur auf Grund einer biologischen Untersuchungs- und Betrachtungsweise erzielt werden. Bei dem heutigen Stand der Bodenbiologie ist es selbstverständlich, daß chemisch-analytische Untersuchungen hierfür unentbehrlich sind. Die Erforschung der Lebensvorgänge, die wir als Humusbildung und Humuszehrung bezeichnen, steht erst in den Anfängen. Insbesondere ist die wissenschaftliche Grundlage für eine gesicherte Auswertung bodenbiologischer Befunde noch unzureichend. Auch bedürfen die mikrobiologischen Arbeitsmethoden teilweise noch einer Vervollkommnung. Die folgenden Unter-

suchungen sollen daher als Beitrag zu dem Versuch gelten, Licht in die mannigfaltigen Wirkungen der Humusdünger zu bringen. Ihr Ziel besteht darin, Zusammenhänge zwischen den chemischen und biologischen Eigenschaften der verschiedenen organischen Dünger, d. h. zwischen der stofflichen Beschaffenheit des Ausgangsmaterials und seiner Zersetzlichkeit festzustellen. Solche Erkenntnisse können für eine vergleichende Prüfung und Beurteilung von Humusdüngern und humusbildenden Stoffen dienen.

Biologische Betrachtungen.

Angaben über Größe und Beschaffenheit der Mikroflora bei Zersetzungserscheinungen geben noch keine Auskunft über den Verlauf der einzelnen Gärungen und ihre Bedeutung, sondern bedürfen einer Auswertung. Hierbei geht man von der Tatsache aus, daß die Gemeinschaft der Kleinlebewesen in ihrer zahlen- und artenmäßigen Zusammensetzung einen empfindlichen Indikator für die verschiedenartigsten Einflüsse darstellt. Leider sind unsere Kenntnisse über die Wechselwirkungen zwischen der Mikroflora und den chemisch-physikalischen Faktoren ihres Standortes noch recht lückenhaft. So wird von A. Janke und Mitarbeitern (10), die Bodenuntersuchungen im Lunzer Gebiet anstellten, zugegeben, daß „ein Zusammenhang zwischen Zahl und Art der Keime und einem bestimmten Umweltfaktor nicht zu erkennen war, da möglicherweise mehrere dominierende Faktoren zusammenwirkten“. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den hier durchgeführten Versuchen, in denen sich die verschiedensten Einflüsse geltend machten. Eine Änderung in dem Kräfteverhältnis, die die Feststellung von Zusammenhängen erschweren kann, läßt sich auch im Verlauf der Versuche nicht ganz vermeiden und wird durch die biologischen Vorgänge selbst hervorgerufen. Im übrigen wurden selbstverständlich für alle Ansätze gleiche Bedingungen geschaffen, so daß man aus Unterschieden in den Befunden auf ein verschiedenes Verhalten der Dünger schließen kann.

An den Vorgängen bei der Kompostierung und weiteren Umwandlung der organischen Substanz im Boden sind in der Hauptsache drei Gruppen von Kleinlebewesen beteiligt: Bakterien, Aktinomyzeten und Pilze. Wir wissen, daß die Gesamtzahl dieser Mikroorganismen stark ansteigt, wenn man dem Boden organisches Zersetzungsmaterial zuführt. Die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Keimzahlen sowie zwischen diesen und der Beschaffenheit der organischen Substanz bedürfen allerdings noch der weiteren Klärung. Eine genauere Kenntnis dieser Zusammenhänge bildet jedoch die Voraussetzung für die biologische Beurteilung der zu untersuchenden Humusdünger. Dabei ist zu bemerken, daß von den drei genannten Gruppen die Schimmelpilze die geringste Rolle spielen, da sie im allgemeinen nur bei saurer Reaktion und reichlichem Luftzutritt Bedeutung gewinnen. Die untersuchten Komposte und Dünger waren aber alle annähernd neutral. Von den Bakterien ist bekannt, daß sie an dem Abbau der leichtzersetzlichen organischen Substanz im Boden, der Veratmung, Verwesung, Vergärung und Fäulnis, hervorragend beteiligt sind und eine weitgehende Mineralisierung der Stoffe bewirken. Dagegen kommen im Schrifttum nur verhältnismäßig spärliche Angaben über die Tätigkeit und Bedeutung der Aktinomyzeten vor, obgleich sie überall in der Natur, besonders im Boden, in großer Zahl zugegen sind. Auch gehen die Meinungen darüber, welche Rolle sie bei der Umwandlung der organischen Stoffe spielen, auseinander. Im folgenden soll zunächst ein Überblick über die wichtigsten Arbeiten auf diesem Gebiet gegeben werden.

Bedeutung der Aktinomyzeten. — J. Ziemiecka (11) prüfte durch die Methode der Aufwuchsplatten nach Rossi-Cholodny 12 verschiedene reine organische Substanzen und komplexes Pflanzenmaterial auf ihre Zersetzlichkeit im Boden durch verschiedene Gruppen von Mikroorganismen. Sie kommt u. a. zu dem Ergebnis, daß neben dem Bodencharakter und den äußeren Faktoren die Zusammensetzung der organischen Substanz von ausschlaggebender Bedeutung für das Mengenverhältnis zwischen Bakterien, Aktinomyzeten und Pilzen ist. Während Stoffe wie Pepton, Alanin und Asparagin im Boden fast ausschließlich durch spezifische Gruppen von Bakterien zersetzt wurden, unterlagen schwer zersetzliche Substanzen wie höhere Fettsäuren und Agar-Agar einer direkten Assimilation durch Aktinomyzeten und Schimmelpilze. Bei der Zersetzung von Pflanzenmassen im Boden fiel den Aktinomyzeten bemerkenswerterweise die Aufgabe zu, eine neue Phase der Umwandlung einzuleiten, nachdem die Tätigkeit der Bakterien und Pilze beendet war. Sie stellten in fruchtbaren Böden die Organismen des „zweiten Angriffs“ dar, während sie in sauren

Böden zusammen mit den Pilzen die Voraussetzung für eine stärkere Tätigkeit der Bakterien schufen. Nach A. Rippel (12) war eine besondere Begünstigung der Bakterien durch Zucker, der Pilze durch Zellulose und der Aktinomyzeten durch Blutmehl im Boden festzustellen. Diese konnten Glykokoll als Stickstoffquelle verwerten, wenn auch anscheinend nicht in dem Maße wie Bakterien und Schimmelpilze (13).

Während R. Meyer (14) einen Aktinomyzeten aus Ackererde isolierte, der Zellulose intensiv zersetzte, konnten nach R. Lieske (15) Reinkulturen von Aktinomyzeten sie kaum als C-Quelle ausnutzen. Auch der Nachweis eines besonderen zellulosélösenden Enzyms gelang bei ihnen nicht. Jedoch läßt „das regelmäßige und massenhafte Vorkommen von Strahlenpilzen an lebenden und abgestorbenen Pflanzenteilen in der Natur vermuten, daß dieselben in hohem Grade an der Zersetzung beteiligt sind". Harnstoff wurde als C-Quelle gut ausgenutzt, Asparagin dagegen nicht. Die meisten Strahlenpilze wiesen proteolytische Enzyme auf und mehr als die Hälfte rief Bakteriolyse hervor. Anorganische Stickstoffquellen wurden nur schlecht ausgenutzt. A. Krainsky (16) stellte wiederum fest, daß Aktinomyzeten je nach Art die Zellulose mehr oder minder stark angreifen. Sie wuchsen sehr gut auf Holz, u. a. auch dann, wenn die Zellulose durch Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure und Kalilauge größtenteils enfernt worden war. Doch ließ sich nicht entscheiden, ob die Aktinomyzeten außer der Zellulose auch das Lignin des Holzes zersetzten. Kasein wurde von den meisten Stämmen peptonisiert und Gelatine verflüssigt. Nach R. Bokor (17) konnte ein Organismus aus der Familie der Actinomycetaceae, der fast überall in Ackerböden jedoch nicht in Sandböden vorkam und von ihm als Mycococcus bezeichnet wurde, Zellulose intensiv als Kohlenstoff- und Energiequelle ausnutzen. C. Stapp und H. Bortels (18) fanden dagegen in Waldstreu keine zellulosezersetzenden Aktinomyzeten.

A. G. Norman (19) schreibt den Aktinomyzeten eine wenn auch nur geringe Fähigkeit zum Lignin-Abbau zu, eine Eigenschaft, die Bakterien nach H. L. Jensen (20) kaum besitzen. Angaben von A. Rippel (13, 21) zufolge wird durch Bakterien und niedere Pilze nur die Methoxylgruppe des Lignins angegriffen. Die eigentlichen Ligninzersetzer sind die Basidiomyzeten, aber auch Askomyzeten und Fungi imperfecti vermögen Lignin auszunutzen. Bei Düngung mit komplexem Pflanzenmaterial vollzieht sich im Boden eine typische Entwicklungsfolge, indem zunächst Phykomyzeten die wasserlöslichen Substanzen zersetzen, sodann Aktinomyzeten und Fungi imperfecti Stärke, Hemizellulose und Zellulose und schließlich vornehmlich Basidiomyzeten die Lignine. Die letztgenannten Stoffe sind für die Bakterien nahezu unangreifbar. Der gleiche Verfasser vertritt hinsichtlich der Abbaustufe die Auffassung, daß die Bakterien im allgemeinen stärker mineralisieren als die Pilze und Aktinomyzeten.

S. A. Waksman und Mitarbeiter teilen über die Abbautätigkeit der Aktinomyzeten mit, daß Lignin im Pflanzenmaterial nur bei ihrer Gegenwart zersetzt wird. Gegenüber bakterieller Tätigkeit ist dieser Stoff sehr beständig. Dabei machen die Autoren die Annahme, daß sich ein schwer angreifbarer Lignin-Eiweißkomplex (humusnucleus) bildet (22). Eine völlige Zerstörung des Lignins tritt nur unter aeroben Verhältnissen und hauptsächlich infolge Tätigkeit von Basidiomyzeten ein, während durch Schimmelpilze und Aktinomyzeten nur die Methoxylgruppe abgebaut wird (23). Auch Hemizellulosen werden unter günstigen Bedingungen von Aktinomyzeten angegriffen, und zwar von ihnen kräftiger als von Pilzen, hinter denen die Bakterien ganz zurücktreten. Ebenfalls sollen die Aktinomyzeten an der Bildung von widerstandsfähigen Uronsäurekomplexen durch Strukturänderung der Hemizellulosen beteiligt sein (24). Die Vertorfungsvorgänge sowie die Zersetzung oder weitere Umwandlung der Torfbestandteile finden hauptsächlich unter dem Einfluß von Aktinomyzeten, daneben aber auch unter dem von aeroben und fakultativ aeroben Bakterien statt. „Während einige dieser Organismen die an der Oberfläche angefangenen Umwandlungsvorgänge fortsetzen, so besonders in der Zellulose, Hemizellulose und Eiweißgruppe, bewirken andere Organismen neue Umwandlungsprozesse. Diese neuen Prozesse scheinen hauptsächlich in Umlagerungen innerhalb des Moleküls zu bestehen, welche bei dem Lignin durch eine gesteigerte Löslichkeit in Alkalien, d. h. in seiner Umwandlung zu den sog. ‚Huminsäuren' gekennzeichnet ist" (25).

Auch das sehr schwer zersetzliche Chitin wird von den Aktinomyzeten angegriffen, so daß ihre Keimzahl im Gartenboden nach einer Chitindüngung stark ansteigt [H. L. Jensen (26)]. Dieser Tatsache kommt bei der Zersetzung der chitinhaltigen Pilzsubstanz durch Mikroorganismen im Erdboden besondere Bedeutung zu [A. Rippel (21)]. Auf Chitin-Agar wachsen nach W. Schmidt-Lange und H. Bucherer (27) ausschließlich Aktinomyzeten, die eine Aufhellung des Nährbodens verursachen.

Nach N. L. Söhngen (28) sowie N. L. Söhngen und I. G. Fol (29) können die mit den Aktinomyzeten eng verwandten Mykobakterien, die im Mist und Ackerboden zahlreich verbreitet sind, Zellulose, Humusverbindungen, Fette, höhere Alkohole, Salze organischer Säuren usw. und so schwer zersetzliche Substanzen wie Benzin, Petroleum, Paraffinöl, Paraffin und Kautschuk als Kohlenstoff- und Energiequellen ausnutzen. Die Aktinomyzeten sind ihnen in vielen dieser Eigenschaften sehr ähnlich, indem sie z. B. ebenfalls Substanzen wie Kautschuk, Naphthalin, Phenanthren und andere zyklische Verbindungen sowie selbst Kohle verarbeiten (12). A. Krainsky (16) kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Aktinomyzeten einen sehr großen Anteil an der Zersetzung und Humifizierung der Pflanzenreste haben. In ähnlicher Weise äußern sich N. G. Cholodny (30) und A. Rippel (21), die annehmen, daß Aktinomyzeten an der Zersetzung schwer angreifbarer Humusstoffe im Boden mitwirken. Der zuletzt genannte Autor betont jedoch, daß über die Art der Zersetzungsvorgänge noch so gut wie nichts bekannt sei.

Bei Durchsicht des Schrifttums gewinnt man also die Überzeugung, daß den Aktinomyzeten bei der Umwandlung der schwerer zersetzlichen organischen Substanzen im Boden eine größere Bedeutung zukommt als den Bakterien. Sie werden hierin vielleicht nur von den Schimmelpilzen übertroffen, die bei saurer Reaktion eine größere Rolle spielen. Andererseits scheinen die Aktinomyzeten im allgemeinen weniger stark zu mineralisieren als die Bakterien.

Nun ist für die Beurteilung eines Humusdüngers gerade die Umwandlung der beständigeren Stoffe bei der Kompostierung oder im Boden von Wichtigkeit, da sie die Quelle der „primären“ (21) Bildung von Humussubstanzen darstellen. Hierfür kommen nach K. Maiwald (31) hauptsächlich Lignine und Eiweißstoffe in Frage. Doch können humusähnliche Verbindungen auch beim Abbau der Zellulose und Hemizellulosen entstehen. Allerdings führt die starke Zersetzung, wie sie bei der Vergärung oder Veratmung der Zellulose durch gewisse Bakterien und beim Abbau des Lignins durch Basidiomyzeten erfolgt, nicht zu Humusprodukten. Die Aktinomyzeten sind dagegen meist nur imstande, geringfügige Umwandlungen zu bewirken, z. B. das Lignin an der Methoxylgruppe anzugreifen oder Hemizellulosen durch Strukturänderungen, bei denen gleichfalls eine Abspaltung von Methoxylgruppen eintritt, in Polyuronsäuren, ähnlich den Galakturonsäurekomplexen, überzuführen. Dabei ist naturgemäß keine starre Grenze zwischen der Tätigkeit von Aktinomyzeten und Bakterien zu ziehen, da sich ihre Wirkungsbereiche vielfach überschneiden.

Auch für die „sekundäre“ Bildung von Humusstoffen, d. h. ihre Entstehung aus der Körpersubstanz von Mikroorganismen, sind die Aktinomyzeten wahrscheinlich von großer Bedeutung. A. Rippel (21) ist der Meinung, „daß die Bildung von Farbstoffen bei Mikroorganismen in biologischer Hinsicht viel Ähnlichkeit mit der Bildung von Humussubstanzen habe, bzw. die Farbstoffe (neben farblosen und aromatischen Komplexen) biologische Vorstufen dazu sind“. Er weist insbesondere darauf hin, daß sich der Stickstoff beim Melanin, Phenacin und bei anderen Stoffen in heterozyklischer Bindung befindet. Derartige Bindungen des Stickstoffs in Humussubstanzen würden aber deren schwere Angreifbarkeit erklären. Bekanntlich ist die Eigenschaft, Farbstoffe auszuscheiden, bei den Aktinomyzeten sehr verbreitet (15). A. E. Kriss (32) erwähnt, daß sich viele Farbstoffe der Aktinomyzeten durch Oxydation in braungefärbte Substanzen umwandeln. Aus Tyrosin vermögen diese Organismen ebenso wie Azotobacter chroococcum Melanin zu bilden.

Ferner werden nach J. F. Geltzer (33) und anderen Verfassern durch Autolyse der Organismen im Boden aromatische Komplexe eiweißartiger Verbindungen und dunkel gefärbter Stoffe frei, die zusammen mit Produkten der Lebenstätigkeit von Mikroorganismen Humusstoffe bilden. Aktinomyzeten und Proaktinomyzeten unterliegen nach N. A. Krassilnikow (34) sehr leicht der Autolyse. Im Zusammenhang mit der „sekundären“ Bildung von Humusstoffen durch Aktinomyzeten ist schließlich noch auf ihre starken bakteriolytischen Eigenschaften (15, 35) sowie auf die von vielen Autoren erwähnte Erzeugung eines Erdgeruches durch diese Organismen hinzuweisen. Nach W. Rullmann (36) muß man den spezifischen Geruch frischer Ackererde hauptsächlich oder ausschließlich den im Erdboden lebenden Aktinomyzeten zuschreiben.

Eigene Versuche.

Im folgenden sollen Versuche mit verschiedenen Humusdüngern und Komposten beschrieben werden. Bei ihrer Durchführung wurden die im vorangehenden Abschnitt gewonnenen Erkenntnisse ausgenutzt. Für die

Auswertung der biologischen Untersuchungsergebnisse waren nachstehende Gesichtspunkte maßgebend:

1. Keimdichte der aeroben Bakterien;
2. Keimdichte der Aktinomyzeten;
3. Aktivität der aeroben Bakterien, gemessen an dem Sporenanteil;
4. Mengenverhältnis der aeroben Bakterien zu den Aktinomyzeten;
5. Beziehungen der aeroben Bakterien und Aktinomyzeten zu den übrigen Keimgruppen einschließlich den Schimmelpilzen;
6. Zusammenhänge zwischen den biologischen und chemischen Befunden.

Die zu den Versuchen benutzten Humusdünger und Komposte waren:

1. Kalkbraunkohle-Mistkompost nach K. Schliephacke (37) (Kompost I). Die Bereitung geschah in folgender Weise: Je 20 Ztr. Kalkbraunkohle und frischer Rindermist wurden abwechselnd in 10 Schichten übereinandergelagert und vergoren. Zu jeder Schicht kamen unter sorgfältiger Verteilung 2 kg Kalimagnesia, 2 kg Rhenaniaphosphat und 1,5 kg Kalkstickstoff. Während der Anlage des Komposthaufens wurden zunächst 300 l Harnstofflösung (434 g in 100 l Wasser) und später weitere 500 l Wasser zugegeben.

2. Brikettier-Staubkohlekompost nach F. Bornemann (38, 39) (Kompost II). Je 20 Ztr. Brikettierkohle und Staubkohle wurden wie Kompost I geschichtet. Zu jeder Lage kamen unter Zusatz von 100 l Wasser 23 kg Kalimagnesia und 35 kg Thomasphosphat. Außerdem wurde jede Schicht mit einer Aufschwemmung von Azotobacter chroococcum beimpft.

3. Kalkbraunkohle-Torfkompost nach K. Schliephacke (Kompost III). Der Kompost wurde aus je 2 Ztr. Kalkbraunkohle und Torf in ähnlicher Weise wie Kompost I bereitet. Jede Schicht erhielt 4 kg Kalimagnesia, 4 kg Rhenaniaphosphat, 3 kg Kalkstickstoff und — mit Ausnahme der obersten Schicht — 200 l der obengenannten Harnstofflösung.

4. Brikettier-Staubkohle-Torfkompost nach F. Bornemann (Kompost IV). Zu seiner Herstellung dienten 10 Ztr. Brikettierkohle, 10 Ztr. Staubkohle und 20 Ztr. Torf. Die Schichtung war dieselbe wie in den vorhergehenden Fällen. Jede Lage erhielt 24 kg Kalimagnesia, 35 kg Thomasphosphat und 400 l Wasser. Wie bei Kompost II erfolgte eine Impfung mit Azotobakter.

Alle Haufen wurden nach 4 Wochen und einem Vierteljahr umgeschaufelt und zum Schluß mit Erde abgedeckt. Die Endprodukte dieser Kompostierung waren nach rund 1½ Jahren lockere, braunschwarze Massen, die mehr oder weniger gut gerottet erschienen[1]).

5. Nettolin von den Vereinigten Bleicherdefabriken A.-G., München.
6. Huminal B von der Firma Haniel & Cie., G. m. b. H., Mannheim.
7. Biohum von der Biohum-Gesellschaft, Berlin W 35.
8. Huba von der Superphosphatfabrik Nordenham.
9. Kalklignin, durch Neutralisation von Lignin mit Ätzkalk gewonnen. Das Lignin war ein Abfallprodukt der Holzhydrolyse und wurde von der Deutschen Holzverzuckerungs- und chem. Fabrik A.-G. in Tornesch (Holst.) bezogen.

---

[1]) Über Art und Stärke der Rottevorgänge, Verhalten von Azotobakter in den Komposten sowie über deren chemische Zusammensetzung soll später in anderem Zusammenhang berichtet werden.

10. Kali-Kalklignin, bereitet wie das Kalklignin durch Neutralisation mit Ätzkalk und Kaliumhydroxyd.

Herstellung und Zusammensetzung der Humusdünger 5—7 sind aus Werbeschriften und veröffentlichten Analysen bekannt. Der Bakteriendünger Nordenham (Huba) wird durch Aufschluß von Torf mit Schwefelsäure unter Druck und Wärme hergestellt, wobei man die überschüssige Säure zum Schluß mit Kalk neutralisiert.

Die Dünger und Komposte wurden in einer Reihe verschiedenartiger Versuche auf ihre Zersetzung hin geprüft. Zu diesem Zweck diente zunächst ein Atmungsversuch, in dem die Dünger in bestimmten Verhältnissen einem Boden beigemischt worden waren. Gleichzeitig mit der Messung der Atmung erfolgte eine laufende Bestimmung der Mikroflora. In weiteren Versuchen wurden die Humusdünger auf die Veränderung ihrer organischen Substanz hin chemisch und mikrobiologisch untersucht, wobei sie mit und ohne mineralische Zusätze, allein sowie im Gemisch mit Sand bei bestimmter Temperatur gehalten wurden. Eine besondere Versuchsreihe galt der Frage nach dem Einfluß einer vorherigen Sterilisierung der Dünger durch Dampf auf die Zersetzungsvorgänge. Es sollte geprüft werden, ob hierbei ähnlich wie bei der entsprechenden Behandlung von Boden ein Aufschluß von Humusstoffen eintrat. Ein letzter Versuch wurde mit reinen organischen Verbindungen durchgeführt, wodurch eine weitere Klärung der Wechselbeziehungen zwischen den chemischen Eigenschaften der Dünger und ihrem biologischen Verhalten erzielt werden sollte. Alle Versuche wurden im Laboratorium durchgeführt, da möglichst einheitliche und übersichtliche Bedingungen geschaffen werden mußten.

1. Atmungsversuch.

Als Untersuchungsmaterial dienten Kalklignin, Braunkohle-Torfkompost nach K. Schliephäcke (Kompost III), Biohum, Nettolin, Huminal B und Huba. Vor Ansetzen des Versuches wurden diese Dünger sowohl wie der Versuchsboden bakteriologisch untersucht (Übers. 1). Auf Grund der gewonnenen Ergebnisse kann man die Dünger in zwei Gruppen einteilen. Biohum, Nettolin, Kalklignin und Braunkohle-Torfkompost, die zur ersten Gruppe gehören, waren mehr oder minder keimreich, während Huba und Huminal B, die die zweite Gruppe bilden, sehr wenig Keime und Keimarten enthielten. Im ersten Fall handelt es sich also um Material, das eine Rotte durchgemacht hatte oder sich zur Zeit der Probenahme in Zersetzung befand. Demgegenüber kann die biologische Umwandlung der anderen Dünger erst nach ihrer Unterbringung im Boden beginnen.

Der zu dem Atmungsversuch benutzte schwach humose, in gutem Kulturzustand befindliche Sandboden zeigte eine ungefähr neutrale Reaktion ($p_H = 7{,}20$) mit einem Gehalt von 0,41% $CaCO_3$. Nach der Keimpflanzenmethode verfügte er über 26,7 mg K_2O und 15 mg P_2O_5. Trotz dieses hohen Gehaltes an wurzellöslichen Nährstoffen erhielt der Boden vor dem Versuch noch eine Grunddüngung von 1,55 g K_2SO_4 und 1,92 g KH_2PO_4 je 6 kg. Die Phosphorsäure wurde mit Rücksicht auf den Kalkgehalt als KH_2PO_4 gegeben (40). Außerdem kamen in einer Versuchsreihe 3 g Ammoniumnitrat je 6 kg Boden zur Anwendung. Der Versuch bestand also entsprechend den 6 Humusdüngern und dem Versuchsboden ohne organischen Zusatz aus zwei Reihen mit je 7 Gefäßen, die doppelt angesetzt wurden. Die eine

Übersicht 1. Bakteriologische Unter

Untersuchungsmaterial	Keimzahlen auf festen Nährböden[1]				
	pH	aerobe Bakterien auf Bouillon-Agar	Schimmelpilze auf saurem Würze-Agar	Sporen auf Bouillon-Agar	Aktinomyzeten auf Kalzium-malat-Agar
		(in Tausend)			
Versuchsboden	8,0	5 600	103	930	5 000
Kalkbraunkohle-Torfkompost III	7,05	2 460	400	560	2 130 000
Biohum	5,76	46 000	200	63	76 000
Huminal B	6,85	18	23	1,6	630
Kalklignin	7,54	5 530	1262	—	0
Huba	5,86	6	1430	0,8	85
Nettolin	7,94	4 800	3700	118	40

[1]) Bezogen auf 1 g lufttrockener Substanz.

Reihe setzte sich aus den Gefäßen mit und die andere aus denen ohne mineralische Stickstoffquelle zusammen. Demgemäß war die Anordnung des Versuches folgende:

Reihe	Humusdünger	Mineralische Düngung		
	%	NH_4NO_3 %	K_2SO_4 %	KH_2PO_4 %
1 a	0	0	0,026	0,032
1 b	0	0,05	0,026	0,032
2 a—7 a	3	0	0,026	0,032
2 b—7 b	3	0,05	0,026	0,032

Bestimmung der Kohlensäure. — In 300 ccm Erlenmeyer-Kolben befanden sich je 100 g des gesiebten Bodens mit den genannten Düngergaben. Der Zusatz der organischen Dünger betrug auf lufttrockenen Boden bezogen an Trockenmasse 3%. Zur Anfeuchtung des lufttrockenen Bodens dienten je 15 ccm Wasser. Die Kolben wurden mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen luftdicht verschlossen, durch deren Bohrungen ein kurzes und ein längeres Glasrohr führten, von denen das letzte dicht über der Bodenoberfläche endete. Durch Absaugen der über dem Boden sich anreichernden Kohlensäure fand täglich eine Zufuhr frischer Luft statt. Zur Reinigung derselben waren den Versuchskolben die üblichen Absorptionsgefäße vorgeschaltet, während die aus dem Boden entweichende Kohlensäure in Kali-Schraubenapparaten und Natronkalkröhrchen aufgefangen und wöchentlich einmal gewichtsmäßig bestimmt wurde. Wie Vorversuche gezeigt hatten, war das Absaugen der Luft über dem Boden mindestens so günstig wie das Durchdrücken durch die Gefäße. Diese standen in einem dunklen, temperaturkonstanten Raum bei 20° C.

Von den Kohlensäurebeträgen, die sich in den Erlenmeyer-Kolben bildeten, wurden die Werte für den Boden ohne organischen Dünger ab-

suchung der Dünger und Komposte.

Keimzahlen in Nährlösungen						
Indolbildner in Bouillon	Gasbildner in Gentiana-violett-Galle-Laktose-bouillon	Amylobakterien in Kartoffelbrei	Azotobakterien	denitrifizierende Bakterien	nitrifizierende Bakterien	Zellulosezersetzer
10 000	10 000	1000	100	5 000	1 000	100
1 000	1 000	100	0	50 000	10 000	10 000
10 000	1 000	10	10	50 000	10 000	1 000
100	10	5	0	5	0	0
0	0	10	10	5 000	100	1 000 000
10	0	10	10	0	0	10
1 000	0	0	10	5	100 000	100

gezogen, so daß die Ergebnisse nur die durch ihre Zersetzung erzeugten Mengen anzeigen. Der Verlauf der Kohlensäurebildung kam durch Eintragung der Werte mit dem dreifachen mittleren Fehler in ein Koordinatensystem zur graphischen Darstellung (Abb. 1). Außerdem wurden die bis zum Schluß erhaltenen gesamten Kohlensäuremengen in Verhältniszahlen umgerechnet, die sich auf den gleich 1 gesetzten Wert für den ungedüngten Boden bezogen. Sie sind in folgender Übersicht verzeichnet:

Düngung	ohne NH_4NO_3	mit NH_4NO_3
Huba	14,5	21,9
Huminal B	3,6	5,3
Nettolin	2,8	5,3
Kalkbraunkohle-Torfkompost	2,8	1,8
Kalklignin	1,9	3,9
Biohum	0,9	1,2
ungedüngt	1,0	1,0

Die Kurven lassen ebenso wie die Verhältniszahlen deutlich die verschiedene Wirkung der Humusdünger erkennen. Den stärksten Einfluß auf die Bodenatmung hatte Huba-Nordenham, was mit seinem hohen Gehalt an leicht zersetzlichen Kohlehydraten in Zusammenhang steht. Ihm folgen Huminal B, Nettolin und Braunkohle-Torfkompost. Beim Biohum war die Kohlensäurebildung am geringsten, die mit der Verhältniszahl 0,9 in der Reihe ohne Stickstoff noch nicht einmal den Wert für den ungedüngten Boden erreichte.

Die Stickstoffdüngung rief bei fast allen Humusdüngern eine wirksame Steigerung der Kohlensäurebildung hervor. Sie war, absolut genommen, am größten beim Huba, prozentual beim Kalklignin. Der Braunkohle-Torfkompost machte in dieser Beziehung eine Ausnahme, da die Stickstoffgabe

offenbar eine Hemmung der Atmung zur Folge hatte. Worauf diese zurückzuführen ist, läßt sich nicht ohne weiteres sagen.

In beiden Versuchsreihen ist also ein sehr unterschiedliches Verhalten der einzelnen Dünger festzustellen, was auch die Kurvenbilder deutlich zeigen. Huba begann mit einer außerordentlich starken Kohlensäurebildung, die nur allmählich nachließ. Die Wirkung der übrigen Dünger wich von diesem Verhalten erheblich ab, da die Kohlensäurekurve im allgemeinen langsam anstieg. Eine Ausnahme hiervon machte höchstens Nettolin, das sogar in der Reihe ohne mineralischen N-Dünger während der ersten Woche eine ansehnliche Gasentwicklung aufwies. Trotzdem erstreckte sich die verstärkte Atmung in allen Fällen über die ganze Versuchsdauer. Eine Sonderstellung nahm Biohum auch hier ein, indem es die Kohlensäurebildung zwar gleichmäßig, aber nur wenig förderte.

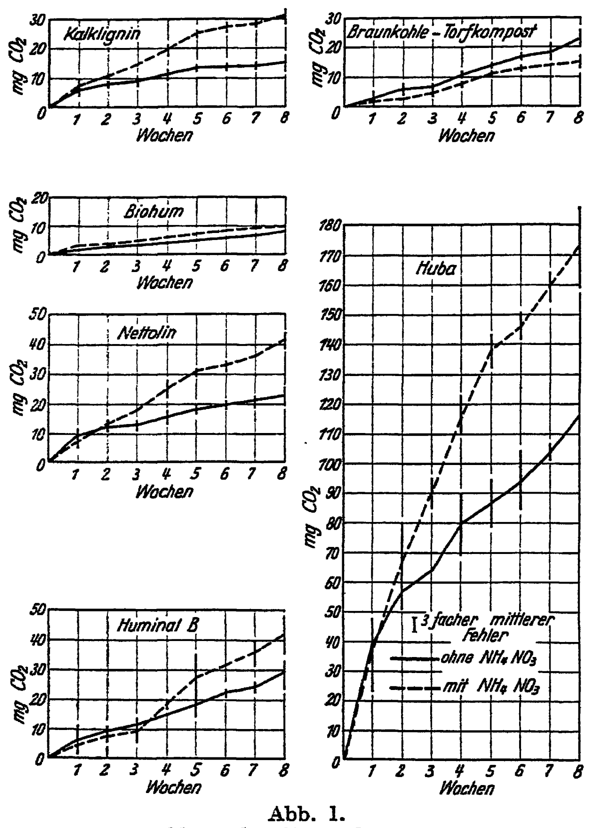


Abb. 1.
Kohlensäurebildung der Humusdünger und Komposte.

Das Ergebnis dieses Atmungsversuches sagt unmittelbar nichts darüber aus, ob und in welchem Umfang die Dünger zur Bildung von mildem Humus und damit zur Erhöhung der Bodenfruchtbarkeit beitragen (41). Es läßt jedoch Rückschlüsse über den Verbleib und die Umwandlung der Humusdünger oder gewisser Bestandteile von ihnen zu. Es wird sich später noch Gelegenheit bieten, auf diese Frage zurückzukommen. Weiterhin zeigt das Ergebnis, daß die Zugabe einer mineralischen Stickstoffverbindung (Ammoniumnitrat) den Abbau der organischen Substanz unter den angeführten Versuchsbedingungen und mit Ausnahme des Braunkohle-Torfkompostes beschleunigte. Es bestätigt sich also in dieser Beziehung die Ansicht, daß mineralischer Dünger die Zersetzung der organischen Substanz einschließlich der des Humus begünstigen kann (42, 43).

Bestimmung der Mikroflora. — Gleichzeitig mit den Untersuchungen über die Kohlensäurebildung wurden bakteriologische Bestimmungen durchgeführt, für die aber andere Bodenproben mit gleicher Düngung dienten, die in Mitscherlich-Gefäßen locker lagerten. Das verdunstete

Wasser wurde dauernd ergänzt. Die Probeentnahme geschah stets in einer Tiefe von 10 cm. Die bakteriologische Untersuchung erstreckte sich auf die Keimzahlenbestimmung der aeroben Bakterien und ihrer Sporen, der Aktinomyzeten, Schimmelpilze, Azotobakterien, Amylobakterien, der nitrifizierenden und denitrifizierenden Organismen, der Zellulosezersetzer, Indolbildner und Gasbildner. Außerdem wurden die p_H-Werte gemessen. Die Ermittlung der drei zuerst genannten Keimgruppen erfolgte nach der Verdünnungsmethode auf folgenden festen Nährböden: Auf Bouillonagar mit einem p_H-Wert von 7,2 für die aeroben Bakterien und ihre Sporen, auf Kalziummalat-Agar mit einem p_H-Wert von 7,0 für die Aktinomyzeten und auf saurem Würzeagar mit einem p_H-Wert von 5,0 für die Schimmelpilze. Die Bestimmung der übrigen Keime geschah titrimetrisch in Nährlösungen. Zur Anreicherung dienten für die Zellulosezersetzer Omelianskische Lösung mit Filtrierpapierstreifen (44), für die Azotobakterien Mannitlösung nach M. W. Beijerinck (45), für die nitrifizierenden Organismen Nährlösung nach F. Löhnis (46), für die denitrifizierenden Giltaysche Lösung (46), für die Amylobakterien Kartoffelbreiröhrchen nach G. Ruschmann und L. Harder (47), für die Indolbildner Bouillon und für die Gasbildner Gentianaviolett-Galle-Laktosebouillon.

Die Untersuchung erfolgte 14tägig. Das Ergebnis ist aus den Kurven der Abb. 2 sowie aus Übersicht 2 zu ersehen. Die Kurven geben die Veränderungen der Keimzahlen im Verlaufe eines Vierteljahres in logarithmischer Darstellung wieder. Die Verwendung von Logarithmen statt numerischer Werte (48) mußte aus dem Grunde gewählt werden, weil dadurch die Wiedergabe großer Zahlenunterschiede ermöglicht und geringere Schwankungen ausgeglichen wurden. Damit das Bild möglichst klar blieb und doch die wesentlichen Zusammenhänge hervortraten, ist das Verhalten der Organismen, das wenig Besonderheiten aufwies, nicht kurvenmäßig dargestellt worden. Dies gilt für die Indol- und Gasbildner, die nitrifizierenden und denitrifizierenden Organismen, die Azotobakterien und Amylobakterien. Im folgenden seien kurz die wenigen Fälle angeführt, in denen eine Erwähnung dieser Keimgruppen wünschenswert erscheint.

Die Indolbildner zeigten in dem mit Biohum gedüngten Boden meist sehr niedrige Keimzahlen, während sie in dem mit Huba gedüngten die höchsten Werte erreichten. Die Gasbildner waren ebenfalls in dem letztgenannten Boden zahlreicher als in den übrigen. Besonders stark war der Einfluß des Hubas auf die Entwicklung von Azotobakter, dessen Vermehrung auf das Hundertfache anstieg. Mit der Zunahme von Azotobakter ging eine gleich starke Entwicklung der denitrifizierenden Organismen einher. Eine Besonderheit stellten die Keimzahlen der Amylobakterien in dem Boden mit Huba insofern dar, als sie bei N-Düngung viel geringer waren als ohne diese. Anscheinend handelte es sich dabei um die stickstoffbindende Abart, deren Entwicklung durch mineralische Stickstoffverbindungen gehemmt werden soll.

Auch das Verhalten der Zellulosezersetzer läßt einen Zusammenhang mit der Düngung erkennen. Wie Übersicht 2 zeigt, wies diese Keimgruppe in den mit Kalklignin und Nettolin gedüngten Böden durchschnittlich die höchsten und in den mit Biohum und Braunkohle-Torfkompost die niedrigsten Zahlen auf. Die beiden letztgenannten Dünger hatten sich auch durch eine geringe Kohlensäurebildung ausgezeichnet, und zwar besonders in der Reihe mit mineralischer Düngung. In derselben Reihe traten Kalklignin und Nettolin, die bezüglich der Keimdichte der Zellulosezersetzer an der Spitze

Übersicht 2.

Zellulosezersetzer in Nährlösung nach W. Omelianski.

Untersuchung nach	ohne NH_4NO_3	mit NH_4NO_3
ungedüngter Boden		
sofort	100	100
2 Wochen	500	1 000
4 Wochen	100	500
6 Wochen	500	—
8 Wochen	—	100
12 Wochen	100	100
Kalklignin		
sofort	100	100
2 Wochen	1 000	100 000
4 Wochen	10 000	10 000
6 Wochen	10 000	—
8 Wochen	—	1 000
12 Wochen	100	5 000
Kalkbraunkohle-Torfkompost		
sofort	100	100
2 Wochen	1 000	5 000
4 Wochen	5 000	5 000
6 Wochen	5 000	—
8 Wochen	—	500
12 Wochen	10 000	500
Biohum		
sofort	100	100
2 Wochen	1 000	100
4 Wochen	1 000	500
6 Wochen	5 000	—
8 Wochen	—	50
12 Wochen	500	100
Nettolin		
sofort	100	100
2 Wochen	1 000	1 000
4 Wochen	100 000	1 000
6 Wochen	10 000	—
8 Wochen	—	100 000
12 Wochen	100 000	1 000 000
Huminal B		
sofort	100	100
2 Wochen	500	5 000
4 Wochen	500	10 000
6 Wochen	500	—
8 Wochen	—	1 000
12 Wochen	50 000	100
Huba		
sofort	100	100
2 Wochen	1 000	1 000
4 Wochen	1 000	100 000
6 Wochen	5 000	—
8 Wochen	—	500 000
12 Wochen	5 000	500

standen, durch eine verhältnismäßig hohe Kohlensäureproduktion hervor. Wenn Huba diese Beziehung zwischen Atmung und spezifischen Gärungserregern nicht erkennen läßt, dürfte dies damit zu erklären sein, daß er reichliche Mengen Kohlehydrate enthält, die zersetzlicher als Zellulose sind. Die zusätzliche mineralische Düngung bewirkte in den Böden mit Huba und Huminal B eine deutliche Zunahme, in den mit Biohum und Braunkohle-Torfkompost eine Abnahme der Zellulosezersetzer. Der ungedüngte Boden enthielt am wenigsten Keime dieser Art.

Bei der Auswertung der Kurvenbilder, die die Entwicklung der aeroben Bakterien, Sporen, Aktinomyzeten und Schimmelpize in logarithmischer Darstellung wiedergeben, muß man berücksichtigen, daß schon geringe Abweichungen in dem Verlauf der Kurven bedeutende Änderungen der Keimzahlen anzeigen. Dementsprechend wiesen die Kurven für die gedüngten und erst recht für die ungedüngten Böden während der 12wöchigen Versuchsdauer verhältnismäßig geringe Schwankungen auf, die sich meist bald wieder ausglichen. Eine Ausnahme davon machte höchstens Huba, der in jeder Beziehung von den übrigen Düngern abwich. Trotzdem war die Lage der Kurven je nach Düngung verschieden. Wenn man von vorübergehenden Schwankungen absieht und den waagerechten Verlauf der Kurven in großen Linien verfolgt, kommt man zu folgenden Feststellungen.

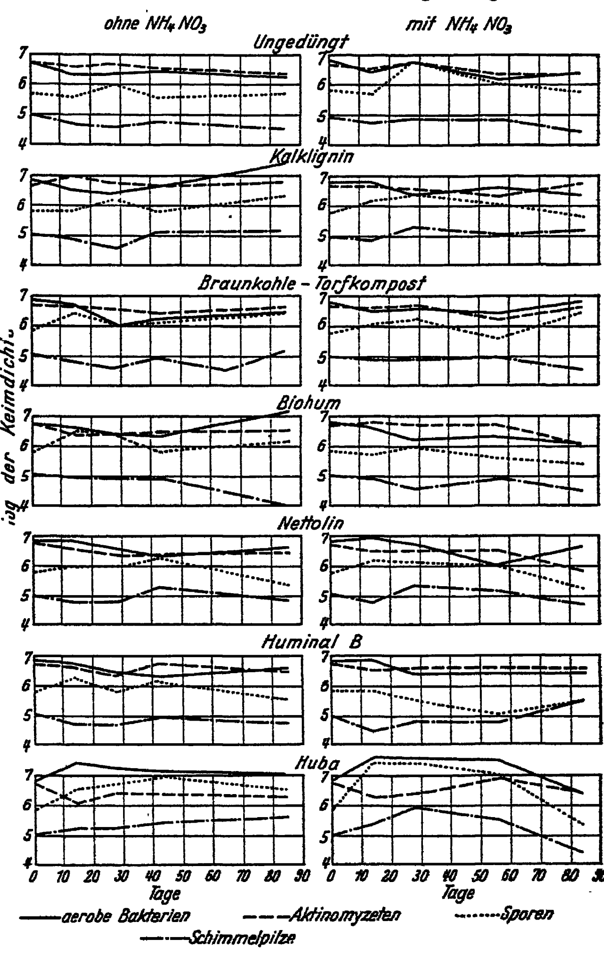


Abb. 2.
Keimgehalt der Dünger während des Atmungsversuches.

Zwischen den Keimzahlen der aeroben Bakterien und der Kohlensäureproduktion bestand nur für die beiden mit Huba gedüngten Böden eine deutliche Parallelität. Die Zugabe dieses Düngers hatte gegenüber dem ungedüngten Boden eine Erhöhung der Bakterienzahlen etwa um das Zehnfache zur Folge. Selbst die Erhöhung der Bodenatmung durch die mineralische Stickstoffdüngung steht noch mit einer merklichen Zunahme der Bakterien-

flora in Zusammenhang. Ferner zeigt sich, daß in dem zuletzt genannten Fall nach dem 56. Tag eine starke Abnahme sowohl der aeroben Bakterien als auch aller übrigen Keimgruppen einsetzt, während dies für den Boden mit ausschließlicher Hubadüngung nicht zutrifft. Hierin kommt eine stärkere Zersetzung, aber auch frühzeitigere Erschöpfung dieses Düngers an leichter zersetzlichen Stoffen durch die Stickstoffgabe zum Ausdruck.

Die übrigen Dünger hatten zwar gegenüber dem ungedüngten Boden früher oder später ebenfalls eine Erhöhung der Bakterienzahlen bewirkt, jedoch blieb sie nur gering und kann nicht mit der Kohlensäurebildung in einen gesetzmäßigen Zusammenhang gebracht werden. Die Beigabe von Ammoniumnitrat hat sich im Gegensatz zu dem mit Huba gedüngten Boden bei diesen Düngern nicht auf die Keimdichte der aeroben Bakterien ausgewirkt. Aus allen diesen Befunden geht hervor, daß die erhöhte Kohlensäurebildung nur bei der Hubadüngung auf eine überwiegende Tätigkeit der aeroben Bakterien zurückzuführen ist. In den übrigen Böden müssen hauptsächlich andere Keimgruppen dafür verantwortlich gemacht werden.

Die Keimzahlen der Schimmelpilze sind im allgemeinen gering, wie es in Hinblick auf die Reaktion zu erwarten war. Jedoch sind auch hier gewisse Zusammenhänge mit der Düngung festzustellen. Der Boden ohne organischen Dünger weist durchschnittlich die geringsten Pilzzahlen auf, die durch die Düngung mit Braunkohle-Torfkompost, Biohum und Huminal B nicht oder nur unwesentlich erhöht werden. Durch Kalklignin, Nettolin und besonders durch Huba ist ihre Entwicklung während des Versuches allerdings gefördert worden. Dies sind vornehmlich die Dünger, die die Kohlensäureproduktion des Bodens deutlich anregten und die mit Ausnahme von Huba auch hinsichtlich der Zellulosezersetzer hervortraten. Bei denselben Düngern einschließlich Huba scheint die mineralische Stickstoffgabe die Entwicklung der Schimmelpilze in geringem Maß begünstigt zu haben.

Ebenfalls ist ein Einfluß der Düngung auf die Entwicklung der Aktinomyzeten sichtbar, er wirkt sich aber anders aus als auf die der aeroben Bakterien und Schimmelpilze. Hier lassen sich keine Beziehungen zu den Atmungswerten feststellen. Auch laufen die Aktinomyzetenkurven meist gerade denen der übrigen Keimgruppen, besonders denen der aeroben Bakterien, entgegengesetzt.

Die Hubadüngung, die die Bakterien und Schimmelpilze deutlich begünstigte, übte auf die Aktinomyzeten einen stark hemmenden Einfluß aus. Auch Nettolin und Biohum wirkten in diesem Sinne auf die Keimzahlen der Aktinomyzeten ein, wogegen Kalklignin und Huminal B ihre Entwicklung eher förderten. Es ist bemerkenswert, daß es sich in dem zuletzt genannten Fall um Dünger handelt, die vor ihrer Anwendung noch keine Rotte durchgemacht oder anderweitige biologische Veränderungen in ihren Grundsubstanzen, Lignin und Torf, erfahren haben. Bekanntlich wird Huminal B durch Zusatz von Mineralstofflösungen zu jungem Sphagnumtorf und darauffolgendes Pressen hergestellt, ohne daß die Möglichkeit für eine Rotte besteht. Offenbar unterliegen diese Dünger nach ihrem Unterbringen im Boden weniger Veratmungsvorgängen als andern Umsetzungen, die bei den übrigen Düngern in den Hintergrund treten. Diese stehen in Zusammenhang mit der Tätigkeit der Aktinomyzeten, aber in Gegensatz zur Mineralisierung der organischen Substanz, d. h. der Kohlensäurebildung.

Auf die mineralische N-Düngung sprechen die Aktinomyzeten nur beim Biohum deutlich an, so daß ihre Kurve während des gesamten Versuches

über der der aeroben Bakterien liegt. Beim Kalklignin wirkte sich die Düngung offenbar hemmend aus. In dem mit Huba gedüngten Boden machte sich erst nach etwa 4 Wochen ein fördernder Einfluß der Stickstoffgabe auf die Aktinomyzeten geltend.

Von besonderer Bedeutung ist das Mengenverhältnis der Aktinomyzeten zu den aeroben Bakterien, das in dem Abstand und der Lage der betreffenden Kurven zueinander zum Ausdruck kommt. Bei dem ungedüngten Boden verläuft die Aktinomyzetenkurve in der Reihe ohne Stickstoff völlig über der der aeroben Bakterien, wobei der Abstand beider Kurven ungefähr derselbe bleibt. In der Reihe mit Stickstoff liegen die Verhältnisse für diesen Boden ähnlich.

Der einzige Dünger, bei dem die Aktinomyzeten ohne Ammoniumnitrat in den ersten Wochen des Versuches die Oberhand über die Bakterien gewinnen, ist das Kalklignin. Erst nach etwa vierwöchiger Tätigkeit der Aktinomyzeten finden die aeroben Bakterien wieder Vermehrungsbedingungen, die schließlich zu ihrer Vorherrschaft führen. Bei den übrigen Düngern macht sich diese Entwicklungsfolge nicht bemerkbar, da die aeroben Bakterien den Aktinomyzeten wenigstens zu Anfang immer überlegen sind. Das verschiedene Verhalten der beiden Organismengruppen drückt sich in dem Überschneiden ihrer Kurven aus, das sich während der Dauer der Versuche wiederholen kann. Ob es sich hierbei um eine antagonistische Wirkung dieser Keimgruppen oder mehr um eine Metabiose bei der Stoffausnutzung handelt, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden. Für die erste Annahme sprechen die Kurvenbilder der beiden Hubaversuche, deren Böden am meisten Bakterien enthalten, wenn am wenigsten Aktinomyzeten darin vorkommen. Dies hat um so größere Bedeutung, als die Bakterienzahlen hier besonders hoch ansteigen und die der Aktinomyzeten besonders stark fallen. Das wichtige Mengenverhältnis zwischen den Aktinomyzeten und aeroben Bakterien soll im Anschluß an die folgenden Versuche eingehender besprochen werden.

Aus den Ergebnissen dieses Versuches lassen sich also nachstehende Schlußfolgerungen ziehen. Es sind zwei Vorgänge erkennbar, von denen der eine durch Kohlensäurebildung, der andere durch eine geringfügigere Umwandlung der organischen Substanz gekennzeichnet wird. Diesen beiden Vorgängen entspricht das gegenläufige Verhalten der aeroben Bakterien, denen vorwiegend die Erzeugung der Kohlensäure zuzuschreiben ist, und der Aktinomyzeten, die anscheinend nur schwache Fähigkeiten zur Mineralisierung besitzen. An der Kohlensäurebildung beteiligt sich aber nicht immer die gleiche Organismengruppe in der gleichen Stärke. Obwohl dieser Vorgang in dem mit Huba gedüngten Boden von einem außerordentlich starken Anwachsen der Bakterienzahlen begleitet war, ist er offenbar bei den übrigen Düngern mit der Vermehrung und Tätigkeit der Zellulosezersetzer sowie der Schimmelpilze, deren Keimzahlen allerdings ziemlich gering blieben, in Verbindung zu bringen. Ausschlaggebend für diese Verhältnisse ist die mehr oder weniger große Zersetzlichkeit der organischen Substanz in den Düngern.

Der durch die Entwicklung der Aktinomyzeten gekennzeichnete Vorgang trat nur bei den Düngern mit schwer zersetzlichen und biologisch nicht veränderten Grundsubstanzen, dem Kalklignin und Huminal B, deutlich in Erscheinung. Unter Berücksichtigung der Ansichten älterer Autoren, wie sie bei Besprechung des Schrifttums erwähnt wurden, kann man gemäß den mitgeteilten Ergebnissen mit einigem Recht behaupten, daß die Aktinomyzeten

an der Humifizierung der schwer zersetzlichen Stoffe in diesen Düngern hervorragend beteiligt sind. Obwohl diese Organismen bei den übrigen Düngern weniger hervortreten, läßt die fast stets zu beobachtende Entwicklungsfolge doch darauf schließen, daß sie sich auch hier betätigen und früher oder später stärker zur Geltung kommen.

2. Erster Zersetzungsversuch mit Humusdüngern.

Entsprechend dem vorher mitgeteilten Versuchsplan wurde ein erster Versuch über die Umbildung der organischen Dünger und Komposte unter dem Gesichtspunkt der Humusbildung und -zehrung angelegt. Hierbei sollten gleichzeitig chemische und mikrobiologische Untersuchungen durchgeführt und die Ergebnisse miteinander verglichen werden.

Anlage des Versuches. — Zur Verwendung gelangten die auf S. 38 beschriebenen 4 Kohlekomposte, ferner Nettolin, Huminal B, Biohum, Kalklignin und Kali-Kalklignin. Die Humusdünger wurden in diesem Fall nicht mit Boden gemischt, sondern direkt und ohne mineralische Zusätze benutzt und bei gleichbleibender Temperatur feucht gehalten. Die Anfangs-p_H-Werte der 9 Dünger lagen zwischen 6,5 und 7,6. Der Feuchtigkeitsgehalt wurde auf 40% der jeweiligen Wasserkapazität eingestellt und durch laufende Ergänzung des verdunsteten Wassers konstant gehalten. Je 300 g Material waren in weiten Emailleschalen von 3 l Inhalt ungefähr 7 cm hoch locker aufgeschichtet worden. Bei Beginn des Versuches erfolgte eine gleichmäßige Beimpfung mit 10 ccm einer Aufschwemmung von bestem Gartenboden mit sterilem Leitungswasser im Verhältnis 1 : 100. Die Schalen waren zum Schutze gegen Licht und Austrocknung zwar bedeckt, aber nicht von der Außenluft abgeschlossen. Die Temperatur in dem Aufbewahrungsraum, einem Vegetationszimmer, betrug während der ganzen Versuchsdauer ziemlich gleichmäßig 20° C.

Der Versuch erstreckte sich über 160 Tage. Die chemische Untersuchung der Dünger und Komposte erfolgte zu Beginn und zum Schluß desselben und umfaßte kolorimetrische und oxydimetrische Bestimmungen von Natronlauge- und Natriumfluorid-Auszügen. Die p_H-Werte und die Wasserkapazität zu Beginn des Versuches gehen aus folgender Übersicht hervor:

Dünger	p_H in H_2O	WK %
Kohlekompost I	6,8	190
Kohlekompost II	6,5	145
Kohlekompost III	6,8	350
Kohlekompost IV	6,6	260
Nettolin	7,5	340
Huminal B	6,9	840
Biohum	6,1	490
Kalklignin	7,1	490
Kali-Kalklignin	7,6	380

Die bakteriologische Untersuchung wurde siebenmal vorgenommen, und zwar sofort, nach 3, 10, 15, 38, 63 und 127 Tagen. Sie erstreckte sich auf die Bestimmung der Keimzahlen für die aeroben Bakterien und ihre Sporen, die Aktinomyzeten, Schimmelpilze und Azotobakterien nach den schon er-

wähnten Verfahren. Abb. 10 auf S. 61 zeigt die Entwicklung der aeroben Bakterien, Sporen und Aktinomyzeten in logarithmischer Darstellung. Die Ergebnisse für die Schimmelpilze und Azotobakterien werden im Text behandelt. Der gesamte Versuch soll im Zusammenhang mit dem folgenden besprochen werden.

3. Zweiter Zersetzungsversuch mit Humusdüngern.

Mit denselben Düngern und Komposten, zu denen Huba noch hinzukam, wurde ein zweiter Versuch angelegt. Hierbei kamen sie im Gemisch mit Sand, und zwar unbehandelt sowie nach Aufschließung durch Erhitzen in strömendem Dampf, zur Verwendung.

Anlage des Versuches. — Die lufttrockenen Dünger wurden zunächst in einer Exzelsiormühle pulverförmig gemahlen. Ein Teil des Mahlgutes wurde mit Wasser übersättigt, eine Stunde in strömendem Dampf erhitzt und dann 24 Std. bei 80° C getrocknet.

Die erhitzten und nicht erhitzten Dünger wurden dann mit Hohenbockaer Sand im Verhältnis 1 : 4 sorgfältig gemischt. Damit die p_H-Werte dieser künstlichen Böden während der Gesamtdauer des Versuches möglichst konstant blieben, erhielten sie mineralische Zusätze, die puffernd wirkten. Deshalb wurden sämtlichen Gemischen unter Ausnahme des mit Kali-Kalklignin 0,5% Kalziumkarbonat reinst von E. Merck und 0,15% K_2HPO_4 zugesetzt, letztgenanntes Salz zusammen mit dem Wasser, das zur Anfeuchtung des Bodens diente. Das Kali-Kalklignin war stark alkalisch und mußte daher einen Zusatz an Säuren bekommen, der aus einer Lösung von je 1 mol Phosphorsäure, Schwefelsäure und Salzsäure bestand. Die Zusammensetzung der Lösung war so gewählt, daß sie zum Ausgleich der in den übrigen Fällen gegebenen Phosphatmenge genügte. Die Zugabe der vorerwähnten Pufferstoffe erübrigte sich hier. Die p_H-Werte der Dünger-Sand-Gemische betrugen zu Beginn des Versuches für:

Kohlekompost I	7,3	Huminal B	7,3
Kohlekompost II	6,9	Biohum	6,7
Kohlekompost III	7,2	Kalklignin	7,3
Kohlekompost IV	7,1	Kali-Kalklignin	7,6
Nettolin	7,6	Huba	7,4

Die Bodengemische wurden bis zu 60% ihrer Wasserkapazität angefeuchtet und in Glasschalen von 300 ccm Inhalt locker gelagert. Gleichzeitig damit erfolgte eine Beimpfung mit Bodenorganismen durch Zusatz einer grob filtrierten Bodenaufschwemmung. Die Schalen wurden zum Schutz gegen Licht und Austrocknung abgedeckt und täglich gelüftet, außerdem die verdunsteten Wassermengen laufend ergänzt. Die Schalen standen während des ganzen Versuches, der 70 Tage dauerte, in einem Raum, der gleichmäßig 20° C hatte.

Die bakteriologische Untersuchung der Böden wurde sofort, nach 2, 4, 8, 15, 22, 29, 36, 41, 52 und 70 Tagen vorgenommen. Sie erstreckte sich auf die Bestimmung der Keimzahlen für die aeroben Bakterien und ihre Sporen, die Aktinomyzeten, Schimmelpilze und Azotobakterien. Die Ergebnisse sind in Abb. 11 auf S. 63 logarithmisch dargestellt. Die chemische Untersuchung erfolgte zu Anfang und zum Schluß des Versuches und bezog sich wieder auf die kolorimetrische und oxydimetrische Bestimmung der Natriumfluorid- und Natronlauge-Auszüge. Der Versuch wurde in zwei Reihen angelegt, so daß für die bakteriologische und chemische Untersuchung verschiedene Schalen des gleichen Ansatzes verwendet werden konnten.

Besprechung der Ergebnisse von Versuch 2 und 3.

Da zu den Versuchen 2 und 3 die gleichen organischen Dünger benutzt worden waren, die nur einer verschiedenen Behandlung unterlagen, war es zweckmäßig, ihre Ergebnisse im Zusammenhang miteinander zu besprechen. Der chemische Teil soll dem biologischen vorangestellt werden, damit die chemischen Befunde zur Erklärung der biologischen Vorgänge dienen können.

a) Chemische Untersuchung. — Die zur Charakterisierung von Humusstoffen üblichen Verfahren beschränken sich im wesentlichen auf die Azetylbromidmethode sowie auf die kolorimetrische und oxydimetrische Untersuchung von Extrakten, die unter Verwendung von Laugen oder kalkfällenden Salzen gewonnen werden.

Während das erstgenannte Verfahren lediglich zur Ermittlung der „echten Humusstoffe" nach U. Springer herangezogen wird, ermöglichen die letztgenannten Methoden einen Einblick in die Zusammensetzung der organischen Düngemittel und Bodenbestandteile nach Stoffgruppen (49). Das Azetylbromidverfahren ist daher wenig geeignet, die Vielgestaltigkeit der Umwandlungen organischer Substanzen, seien sie chemischer oder biologischer Art, zu veranschaulichen. Dies trifft vor allem in den Fällen zu, in denen wie bei den vorliegenden Versuchen nur mit geringfügigen Veränderungen des benutzten Materials zu rechnen war. Hierzu zählt besonders auch die Untersuchung der nicht kompostierten, vorwiegend aus Braunkohle, Lignin und Torf zusammengesetzten Dünger, deren Grundstoffe biologisch schwer angreifbar sind (50). Daher wurde auf die Anwendung der Azetylbromidmethode verzichtet.

Zu den vorliegenden Versuchen dienten als Extraktionsmittel 1proz. Natriumfluoridlösung und 0,5proz. Natronlauge. Der Zweck dabei war, einerseits Aufschluß über die Bindung der Huminsäuren zu erhalten (51), andererseits mit Permanganat oxydieren zu können. Die aus den Extinktionswerten (k-Werten) zu ermittelnden Farbkurven geben nicht nur einen Anhalt für die Konzentration färbender Substanzen in den Auszügen sondern auch für ihre Zusammensetzung. Der Kurvenlauf wird in erster Linie durch den in Lösung befindlichen Huminsäuretyp (52), aber auch durch die mitgelösten Begleitstoffe bestimmt. Je steiler der Verlauf der Kurven und je höher der aus den k-Werten zu errechnende Farbtonwert TF ist, desto mehr kann man nach den heutigen Anschauungen auf einen schlechten Humuszustand, d. h. auf starke Beimengungen von Humusbegleitstoffen (53) oder Zersetzungsprodukten, die durch chemische Eingriffe entstanden sind (49), schließen.

Die Fluorid-Auszüge liefern im allgemeinen wenig verunreinigte Humatlösungen (49), während solche mit Lauge auch Rottelignine weitgehend erfassen (54). Die Menge der in Natriumfluorid oder Natronlauge gelösten Huminsäuren ist von ihrer Zustandsform abhängig. Befindet sich der Humusanteil einer organischen Substanz in hochdisperser, ungebundener Form, so ist die Löslichkeit in Lauge und Fluorid groß. Liegt der Humus gebunden im Gelzustand vor, so löst er sich ebenfalls leicht in Natriumfluorid (55), in Lauge dagegen nur wenig oder fast gar nicht (51). Der Quotient aus den k-Werten des Fluorid- und Natronlauge-Auszuges für gleiche Filterbereiche stellt die Stabilitätszahl oder den Stabilitätsfaktor dar (56), der mit steigenden Werten eine zunehmende Bindung der Huminsäuren zu erkennen gibt.

Die Huminsäuren zeichnen sich gegenüber den Rotteprodukten der Lignine und vor allem gegenüber den Fulvosäuren durch stärkere Farbkraft aus, sie sind daher in erster Linie für die Extinktionswerte ausschlaggebend. Bei der Oxydation werden aber die Begleitstoffe mitbestimmt (57). Durch vorsichtige Trennung gelingt es, einzelne in den Extrakten vorhandene Stoffgruppen auch oxydimetrisch zu erfassen und echte Humusstoffe neben den Begleitstoffen zu ermitteln. So führt die Ansäuerung der Extrakte mit H_2SO_4 zur Abscheidung von Huminsäuren und huminsäureähnlichen Rotteprodukten, Humoligninen usw., während die unfällbare Fraktion neben Fulvosäuren (58) weniger humifizierte Rotteprodukte oder auch unversehrte Gerüststoffe der Pflanzen enthält (59). Bezeichnet man mit a den Oxydationswert für eine bestimmte Menge des Original-Auszuges (10 ccm), ausgedrückt durch den Verbrauch von n/10 $KMnO_4$, und mit b die für einen gleichen Teil der Fulvosäurefraktion erforderliche Permanganatmenge, so errechnet sich der Fällbarkeitsquotient PQ nach der Gleichung $\frac{a-b}{a} \cdot 100$.

Durch Behandlung mit Azetatpuffer von einem p_H-Wert 4,0, der die Löslichkeit der Rotteprodukte fast bis auf Null einschränkt und die Huminsäuren völlig aufnimmt, gelingt die Trennung der Huminsäuren von den Begleitstoffen. Ausfällen mit H_2SO_4 und Auflösen des Niederschlages in Na_2F_2-Lösung oder Natronlauge gestatten die quantitative Ermittlung der Huminsäuren auf oxydimetrischem Wege (60). Der Anteil der Huminsäuren an ausfällbaren Produkten wird als Huminsäurequotient HQ bezeichnet. Hat man das Lösungsvolumen der Huminsäuren im Verlauf der Reinigung unverändert gelassen und bezeichnet die für je 10 ccm der Huminsäurelösung verwendete Permanganatmenge mit c, so ist der Huminsäurequotient $HQ = \frac{c \cdot 100}{a-b}$.

Das Ansatzverhältnis für die Auszüge in Versuch 2 betrug 400 ccm Lösung zu 3 g Trockenmasse der einzelnen Dünger. Diese Gemische wurden 8 Std. in der Maschine geschüttelt, über Nacht fortgestellt, am folgenden Tag wieder 1 Std. geschüttelt und anschließend durch Membranfilter abgesaugt. Die sofort durchgeführten kolorimetrischen Messungen ergaben die in den Abb. 3—9 dargestellten log k-Werte. Die zugehörigen Tönungsfaktoren und Stabilitätszahlen sind in Übersicht 3 enthalten, in der

die Oxydationswerte auf ein Ansatzverhältnis von 1 g Trockenmasse zu 100 ccm Lösung umgerechnet wurden. Das Ansatzverhältnis für Versuch 3 belief sich auf 7,5 g der Dünger-Sand-Gemische zu 50 ccm 1proz. Fluoridlösung oder 0,5proz. Natronlauge. Die Oxydationszahlen sind in Übersicht 4 zusammengestellt und ebenfalls auf ein Ansatzverhältnis von 1 g organischer Trockenmasse zu 100 ccm Lösungsmittel umgerechnet worden. Die Kurven für die log k-Werte wurden in den Abb. 4—9 dargestellt und direkt auf die Originalextrakte bezogen.

Vergleicht man zunächst die Kurven der Fluorid-Auszüge von den Kohlekomposten in Versuch 2 miteinander (Abb. 3), so läßt sich feststellen, daß die Lösungen der Komposte zum Schluß des Versuches größere Mengen färbender Substanzen enthalten als zu Anfang. In Übereinstimmung damit liegen auch die Oxydationszahlen für die Endprodukte stets höher als die für die Anfangsprodukte (Übers. 3, a-Werte). Ähnliches gilt für die c-Werte der gereinigten Huminsäuren.

Diese Tatsachen kommen auch in den Fällbarkeitsquotienten zum Ausdruck, die während der Lagerung der Komposte wahrscheinlich infolge von Gärungen anstiegen. Besonders deutlich tritt dies bei den Komposten II und IV in Erscheinung, bei denen auch die Unterschiede in den Tönungsfaktoren am größten sind und auf eine ungünstige Veränderung in dem Verhältnis von Huminsäuren zu Begleitstoffen schließen lassen. Dementsprechend hat sich der Huminsäurequotient von Kompost IV verringert, während die Quotienten von Kompost I und III — für den erstgenannten besonders deutlich — zunehmen. Hier ist also die Menge der Huminsäuren in der fällbaren Fraktion während der Lagerung angewachsen. Der Gehalt der Auszüge an Fulvosäuren (b-Werte) ist im allgemeinen gering und schwankt für die zugehörigen Auszüge nur innerhalb enger Grenzen.

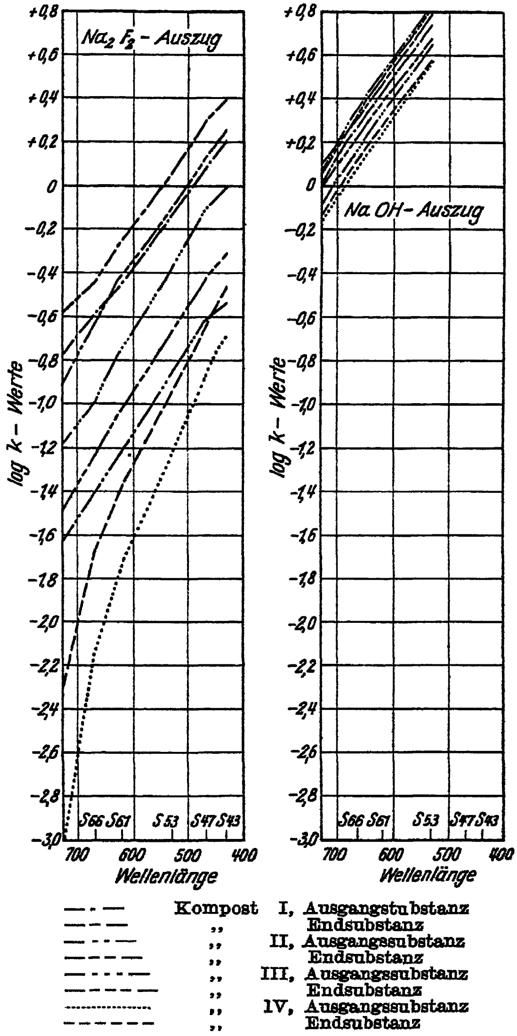


Abb. 3. Kolorimetrische Untersuchung der Braunkohlekomposte.

Die log k-Werte und die Oxydationszahlen der Natronlauge-Auszüge sind für die Komposte am Ende des Versuches ebenfalls höher als vorher. Allerdings treten die Unterschiede hier nicht so deutlich hervor wie bei den Fluorid-Auszügen. In allen Fällen ist aber ein geringer Anstieg der b-Werte für die

Übersicht 3.
Oxydimetrische Untersuchungen der organischen Dünger.
Erster Zersetzungsversuch.

	Natriumfluorid-Auszug						Natronlauge-Auszug						
	Verbrauch n/10 $KMnO_4$ je 10 ccm			Fällbarkeitsquotient	Huminsäurequotient	TF	Verbrauch n/10 $KMnO_4$ je 10 ccm			Fällbarkeitsquotient	Huminsäurequotient	TF	Stabilitätszahl
	Na_2F_2-Auszug a	Fulvosäuren usw. b	Huminsäuren c	PQ	HQ	k S 47 / k S 72	NaOH-Auszug a	Fulvosäuren usw. b	Huminsäuren c	PQ	HQ	k S 53 / k S 72	
1 A Kohlekompost I	3,48	0,28	2,56	92,0	80,0	7,0	25,83	0,91	22,61	96,5	90,7	5,0	0,13
B Kohlekompost I	5,92	0,31	4,95	94,8	88,2	7,4	28,00	1,25	25,96	95,5	97,0	4,6	0,16
2 A Kohlekompost II	0,87	0,45	—[1])	48,3	—[1])	9,0	25,55	1,89	23,43	92,6	99,0	5,7	0,02
B Kohlekompost II	1,31	0,40	0,63	69,4	69,2	11,4	25,80	2,05	23,65	92,1	99,6	5,6	0,03
3 A Kohlekompost III	1,83	0,28	1,45	84,7	93,5	11,4	22,44	1,27	11,65	94,4	55,0	5,2	0,09
B Kohlekompost III	3,16	0,32	2,72	89,9	95,8	10,7	24,81	1,81	13,49	92,7	58,7	4,6	0,15
4 A Kohlekompost IV	0,69	0,36	0,31	47,8	93,9	13,8	16,49	2,27	13,75	86,2	96,7	5,4	0,01
B Kohlekompost IV	1,00	0,44	0,47	56,0	83,9	15,0	17,81	2,31	15,35	87,0	99,0	4,8	0,02
5 A Nettolin	9,68	2,19	7,31	77,4	97,6	9,1	7,47	3,11	1,49	58,4	34,2	6,2	2,81
B Nettolin	7,92	1,75	5,95	77,9	96,4	9,4	7,56	3,15	2,59	58,1	58,7	6,1	1,78
6 A Huminal B	1,39	1,20	—[1])	13,7	—[1])	23,7	8,31	4,36	2,76	47,5	69,9	8,1	0,05
B Huminal B	1,19	1,09	—[1])	8,4	—[1])	20,2	9,47	4,89	3,84	48,4	83,8	7,5	0,03
7 A Biohum	0,73	0,40	—[1])	45,2	—[1])	10,0	8,71	5,59	3,01	35,8	96,5	7,6	0,10
B Biohum	1,60	0,92	—[1])	42,5	—[1])	12,6	4,84	4,27	0,45	11,8	78,9	11,4	0,78
8 A Kalklignin	1,68	0,45	—[1])	73,2	—[1])	14,1	7,56	3,20	1,87	57,7	42,9	8,6	0,36
B Kalklignin	1,77	0,73	—[1])	58,8	—[1])	15,2	8,11	3,25	2,56	59,8	52,7	9,2	0,36
9 A Kali-Kalklignin	4,93	1,72	2,19	65,1	68,2	13,5	10,25	3,37	2,61	66,9	37,9	0,0	0,52
B Kali-Kalklignin	5,92	2,09	3,79	64,6	99,0	15,2	13,73	3,51	5,11	74,4	50,0	9,1	0,62

[1]) Der Gehalt an Huminsäuren war so gering, daß ihre Bestimmung unterblieb.
A = Ausgangssubstanz, B = Endsubstanz.

Fulvosäuren zu beobachten. Möglicherweise muß man dies dem hydrolysierenden Einfluß der Natronlauge zuschreiben, der sich bei den gelagerten Komposten stärker auswirkte. Durch die Fällbarkeitsquotienten unterscheiden sich die NaOH-Extrakte der Ausgangs- und Endsubstanzen ein und desselben Kompostes nur unwesentlich voneinander. Die Huminsäurequotienten nahmen überall und besonders bei Kompost I zu, was sich in den Tönungsfaktoren sinngemäß widerspiegelt.

Die Stabilitätszahlen beweisen, daß auch die nach K. Schliephacke unter Verwendung von Kalkbraunkohle hergestellten Komposte I und III wenig gebundene Huminsäuren enthalten. Obwohl die Stabilitätszahlen teilweise eine schwache Zunahme der Huminsäurebindung durch Kalk, der die Kalkbraunkohle in Form von verhältnismäßig großen Stücken durchsetzte, während der Lagerung erkennen lassen, reichen die Unterschiede nicht aus, die festgestellten Veränderungen der kolorimetrischen und oxydimetrischen Werte lediglich auf eine solche Ursache zurückzuführen. Man darf wohl annehmen, daß die lange feuchte Aufbewahrung der Komposte in Versuch 2 zu einer Quellung und demzufolge einer erhöhten Löslichkeit der Huminsäuren (61) und ihrer Begleitstoffe sowohl in Fluorid wie in Natronlauge geführt hat. Demnach wären hierfür vorwiegend physikalisch-chemische Ursachen maßgebend. Bei Kompost I scheint man allerdings auch biologische Vorgänge für die Substanzveränderungen stärker verantwortlich machen zu müssen, da hier eine sehr deutliche Zunahme echter Humusstoffe in den fällbaren Anteilen ermittelt wurde. Die in Kompost I enthaltenen Mistanteile können als Stütze für eine derartige Erklärung dienen. Über diese Fragen geben die biologischen Untersuchungen weitere Auskunft.

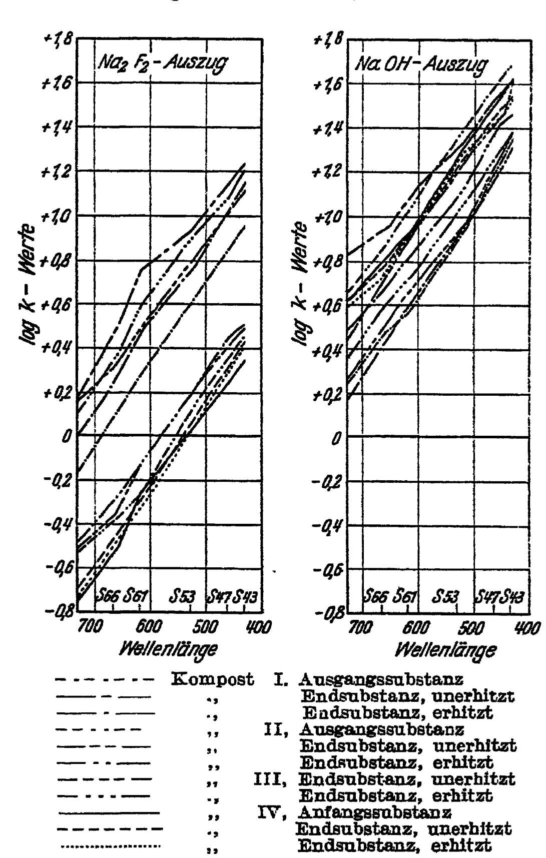


Abb. 4. Kolorimetrische Untersuchung der Kohlekompost-Sand-Gemische.

In Versuch 3 mit den gemahlenen Kohlekomposten, die z. T. einer Erhitzung unterlagen, wurden im Vergleich zum vorangehenden Versuch fast durchweg höhere Oxydations- und Extinktionswerte gefunden (Abb. 4, Übers. 4), die zweifellos in erster Linie der weitgehenden Zerkleinerung des Materials zuzuschreiben sind.

Die Löslichkeit färbender Substanzen in Fluoridlösung hat in Versuch 3

Übersicht 4.
Oxydimetrische Untersuchungen der Dünger-Sand-Gemische.
Zweiter Zersetzungsversuch.

Dünger	Natriumfluorid-Auszug				Natronlauge-Auszug				Stabilitätszahl
	Verbrauch n/10 $KMnO_4$ je 10 ccm: Na_2F_2-Auszug a	Verbrauch n/10 $KMnO_4$ je 10 ccm: Fulvosäuren usw. b	Fällbarkeitsquotient PQ	TF $\frac{k\ S\ 47}{k\ S\ 66,5}$	Verbrauch n/10 $KMnO_4$ je 10 ccm: NaOH-Auszug a	Verbrauch n/10 $KMnO_4$ je 10 ccm: Fulvosäuren usw. b	Fällbarkeitsquotient PQ	TF $\frac{k\ S\ 47}{k\ S\ 66,5}$	
1 A Kohlekompost I	6,90	0,14	88,0	5,5	15,71	1,45	90,8	5,9	0,47
B Kohlekompost I	10,00	0,01	97,1	4,5	15,71	1,07	93,2	4,0	0,37
C Kohlekompost I	7,58	0,05	99,4	5,7	14,65	1,34	90,7	6,1	0,72
2 A Kohlekompost II	1,02	0,70	31,0	5,4	29,17	2,51	91,4	5,6	0,06
B Kohlekompost II	1,12	0,82	26,7	5,7	26,59	2,72	89,8	5,0	0,09
C Kohlekompost II	1,46	0,66	54,5	5,3	22,03	2,53	88,5	5,5	0,11
3 A Kohlekompost III	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B Kohlekompost III	13,23	0,63	95,7	4,9	26,69	3,91	85,3	5,9	0,62
C Kohlekompost III	14,59	0,52	96,4	5,3	26,69	2,82	89,4	4,7	0,65
4 A Kohlekompost IV	5,27	1,66	68,6	5,5	29,51	3,10	89,5	5,2	0,06
B Kohlekompost IV	5,54	1,14	80,6	5,7	28,46	3,21	89,9	4,9	0,07
C Kohlekompost IV	5,88	0,88	84,9	5,9	23,49	2,10	91,2	5,1	0,06
5 A Nettolin	16,76	3,62	78,4	4,8	21,22	5,92	72,1	4,9	1,09
B Nettolin	16,52	2,70	83,6	4,2	20,67	5,26	74,6	5,7	1,38
C Nettolin	17,48	2,21	87,4	4,6	20,60	4,87	76,4	5,5	1,21
6 A Huminal B . . .	6,32	1,31	79,3	7,7	23,70	5,78	75,6	6,3	0,09
B Huminal B . . .	6,32	0,93	85,3	6,0	23,32	6,62	71,6	4,5	0,12
C Huminal B . . .	6,39	1,00	84,4	7,7	23,26	6,62	71,5	5,6	0,08
7 A Biohum	2,79	0,99	64,5	6,0	17,85	6,62	62,9	5,7	0,15
B Biohum	2,07	0,59	71,8	5,3	14,48	7,27	49,8	6,6	0,18
C Biohum	2,96	0,92	69,1	6,4	14,35	7,01	55,4	6,0	0,15
8 A Kalklignin . . .	3,67	1,48	59,7	6,7	8,63	4,00	53,7	10,1	0,40
B Kalklignin . . .	3,55	1,64	53,8	6,3	8,02	2,84	64,6	10,1	0,58
C Kalklignin . . .	4,06	1,30	68,0	6,9	8,43	3,03	64,1	9,9	0,49
9 A Kali-Kalklignin .	6,87	2,60	62,0	9,7	18,29	4,05	77,9	11,2	0,44
B Kali-Kalklignin .	5,54	1,11	80,0	9,4	17,07	2,79	83,7	10,5	0,37
C Kali-Kalklignin .	5,98	1,05	82,4	7,2	18,02	2,98	83,5	9,2	0,39

A = Ausgangssubstanz B = Endsubstanz, nicht erhitzt
C = Endsubstanz, erhitzt

während der Lagerung bei den Komposten I und II zugenommen, und zwar bei Kompost I stärker als beim zweiten. Für Kompost III ließ sich kein Vergleich mit dem Ausgangsmaterial ziehen, da dieses inzwischen verbraucht worden war. Bei Kompost IV hatte die Art der Behandlung nur einen schwachen Einfluß auf die Farbtiefe der Extrakte. Im Gegensatz dazu weisen die Kurven für die Natronlauge-Auszüge darauf hin, daß in einzelnen Fällen solche Wirkungen stattgefunden haben. Während bei Kompost I die nicht erhitzte Endsubstanz die größte Farbtiefe zeigte, war dies bei Kompost II für die Ausgangssubstanz der Fall. Über die Extinktion der NaOH-Auszüge der Komposte III und IV ist ähnliches zu sagen wie über die ihrer Fluorid-Auszüge. Die Tönungsfaktoren der Fluorid- und Natronlauge-Extrakte weichen im allgemeinen nur wenig voneinander ab und lassen keine gesetzmäßigen Beziehungen zwischen der erhitzten und nicht erhitzten oder gelagerten und nicht gelagerten Substanz erkennen.

Die Oxydationswerte für die Fluorid-Auszüge ergeben insofern ein einheitliches Bild, als Natriumfluorid aus den Dünger-Sand-Gemischen nach dem Versuch mehr oxydierbare Substanz herauslöste als vorher. Für die NaOH-Extrakte trifft vor allem bei den Gemischen mit den erhitzten Komposten das Umgekehrte zu. Da, wie bereits bemerkt, die Löslichkeit von Humaten in Natriumfluorid mit zunehmender Bindung steigt, in Natronlauge dagegen sinkt, muß aus den Befunden über die Löslichkeitsverhältnisse geschlossen werden, daß eine teilweise Absättigung der Huminsäuren mit Kalk stattgefunden hat, die in Anbetracht der zugeführten Kalkmengen durchaus begreiflich ist. Die Stabilitätszahlen, die als Mittel aus den Extinktionswerten aller benutzten Filter gebildet wurden, entsprechen dieser Schlußfolgerung allerdings nicht in allen Fällen.

Wenn man Veränderungen im Fulvosäuregehalt als Merkmal biologischer Vorgänge werten will (61), könnte man mit einiger Sicherheit nur bei den erhitzten Komposten III und IV auf solche schließen. Bei diesen ist auch eine Zunahme fällbarer Substanzen sowohl im Fluorid- als auch im Natronlauge-Extrakt festzustellen. Für Kompost I bestehen ähnliche Zusammenhänge zwischen dem Ausgangs- und dem nicht erhitzten Endmaterial. Im Verlauf beider Versuche hat also die Löslichkeit färbender und mit Schwefelsäure fällbarer Substanzen in Natriumfluorid gegenüber dem Ausgangsmaterial zugenommen. Wie aus den Ergebnissen von Versuch 2 zu ersehen ist, bestanden diese zum überwiegenden Teil aus Huminsäuren.

Das Verhalten der Komposte gegenüber Natronlauge weicht bei Versuch 2 auffallend von dem bei Versuch 3 ab, da dort die Löslichkeit der organischen Substanz während der Lagerung meist zu-, hier dagegen abgenommen hat. Die Erscheinung dürfte im ersten Fall wahrscheinlich auf Quellung oder Peptisation, im zweiten dagegen auf Fixierung der Huminsäuren durch den zugesetzten feingemahlenen Kalk zurückzuführen sein, obgleich dies in den Stabilitätszahlen nur wenig zum Ausdruck kommt. Wie die später zu besprechenden bakteriologischen Untersuchungsergebnisse zeigen, scheinen die genannten Vorgänge in engem Zusammenhang mit dem biologischen Verhalten der Komposte zu stehen, da sich auch in dieser Hinsicht wesentliche Unterschiede zwischen den Versuchen 2 und 3 ergaben.

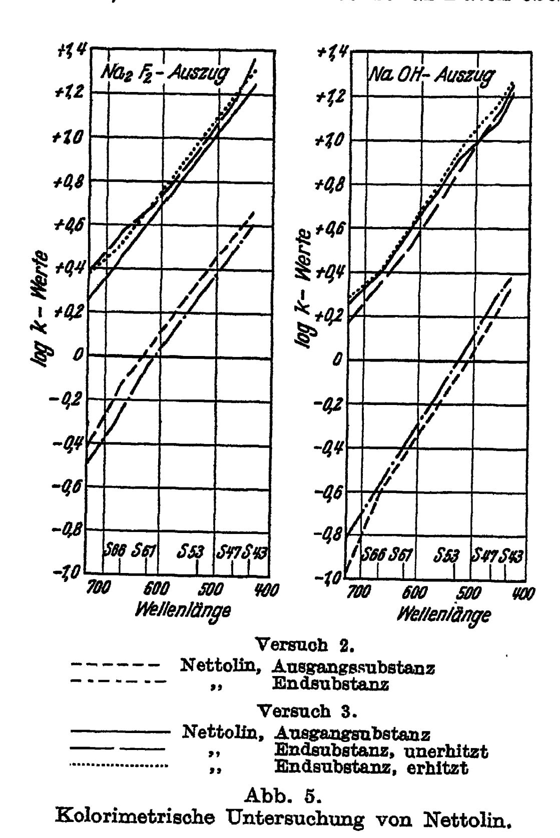
Ferner unterscheiden sich beide Versuche durch den Fulvosäuregehalt ihrer NaOH-Auszüge. Im ersten Versuch nehmen die Oxydationswerte für die Fulvosäuren während der Lagerung der Komposte allgemein etwas zu, im zweiten dagegen meist deutlich ab. Inwieweit bei der Veränderung dieser nach K. Simon (59) höchst mobilen Fraktion biologische Umsetzungen eine Rolle gespielt haben, läßt sich hier noch nicht entscheiden. Für ihre Zunahme können vielleicht hydrolysierende Einflüsse geltend gemacht werden, während ihre Abnahme eher biologisch zu erklären ist. Man kann kaum annehmen, daß unter den Aufbewahrungsbedingungen rein chemische Synthesen oder Kondensationen diese Verbindungen zum Schwinden gebracht haben, wie es beispielsweise bei den erhitzten Komposten III und IV in Versuch 3 zu beobachten war.

Für Nettolin sind die Logarithmen der Extinktionswerte beider Versuche in Abb. 5 dargestellt, während die Oxydationszahlen für den Versuch 2 in Übersicht 3 und für den Versuch 3 in Übersicht 4 enthalten sind.

Aus den Kurven für die log k-Werte des Versuches 2 geht hervor, daß die Löslichkeit der organischen Substanz in Natriumfluorid während der Lagerung etwas zurückgegangen, in Natronlauge dagegen etwas gestiegen ist. Dementsprechend veränderten sich auch die Stabilitätszahlen. Daraus kann

man auf eine Abnahme der Huminsäurebindung schließen. In den Tönungsfaktoren kommt eine stoffliche Umwandlung des Nettolins nicht zum Ausdruck, ebensowenig in den Fällbarkeitsquotienten. In diesen Befunden kommen die biologischen Prozesse, die sich nach der bakteriologischen Untersuchung in diesem Dünger abgespielt haben müssen, nicht zum Ausdruck. Die Tatsache, daß der Huminsäuregehalt (c-Werte) im Fluorid-Auszug während des Versuches gesunken, im Natronlauge-Auszug dagegen gestiegen ist, läßt sich zwanglos mit der erwähnten Änderung der Huminsäurebindung in Übereinstimmung bringen.

In Versuch 3, der mit gemahlenem Nettolin und Sand durchgeführt wurde, weisen die kolorimetrischen Daten ebenfalls nur auf geringfügige Veränderungen in der organischen Substanz während der Lagerung hin. Etwas deutlicher prägt sich diese in den oxydimetrischen Ergebnissen aus. Ähnlich wie bei den vorher besprochenen Kohlekomposten bewirkte die Erhitzung eine erhöhte Löslichkeit der Nettolinsubstanz in Natriumfluorid und eine verminderte in Natronlauge, was auch die Stabilitätszahlen andeuten. Man kann also wiederum auf eine geringe Zunahme der Huminsäurebindung schließen. Da sowohl die Fluorid- als auch die NaOH-Extrakte eine stufenweise Verminderung der leicht löslichen Humusbegleitstoffe (b-Werte) vom Ausgangsmaterial über das unerhitzte zum erhitzten Nettolin erkennen lassen, haben offenbar biologische Vorgänge eine Rolle gespielt, die im folgenden Abschnitt weiter erörtert werden. Wie die PQ-Werte zeigen, ist damit ein Anstieg der fällbaren Komponenten in den Auszügen verbunden. U. a. kann auch das Ergebnis des allerdings mit einer anderen Nettolinprobe durchgeführten Atmungsversuches als Beweis für den biologischen Abbau dieses Düngers herangezogen werden.



Versuch 2.
- - - - - - Nettolin, Ausgangssubstanz
- · - · - · „ Endsubstanz

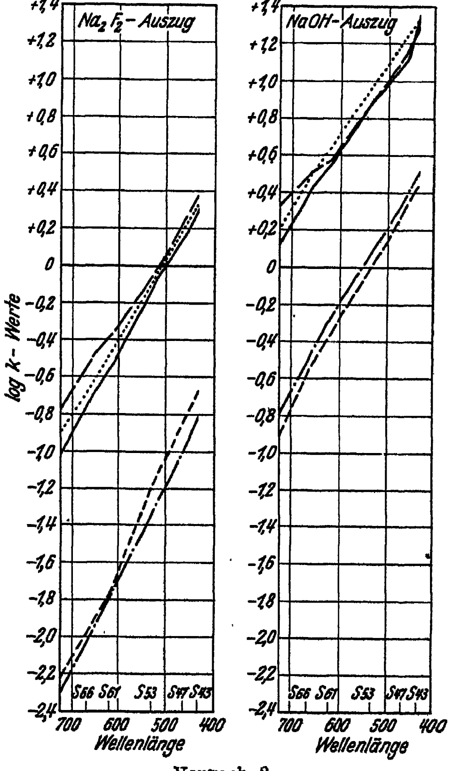
Versuch 3.
——— Nettolin, Ausgangssubstanz
— — — „ Endsubstanz, unerhitzt
········· „ Endsubstanz, erhitzt

Abb. 5.
Kolorimetrische Untersuchung von Nettolin.

Die mit unzerkleinertem Huminal B bereiteten Auszüge des Versuches 2 führten zu den in Abb. 6 und Übersicht 3 wiedergegebenen Befunden. Nach den kolorimetrischen Messungen sind nur geringfügige Veränderungen der organischen Substanz während der Aufbewahrung eingetreten. In Natriumfluorid war die Löslichkeit des Ausgangsmaterials gegenüber der Endsubstanz größer, wenn auch wenig, in Natronlauge dagegen kleiner, so daß der Stabilitätsfaktor etwas ungünstiger wurde. Die oxydimetrischen Daten stimmen

mit den kolorimetrischen weitgehend überein. Da auch die Fulvosäuremengen in den Fluorid- und Natronlauge-Auszügen nur unbedeutende Unterschiede aufweisen, darf man annehmen, daß biologische Umsetzungen während des Versuches keine größere Rolle gespielt haben.

Bei dem mit gemahlenem Huminal B durchgeführten Versuch 3 weichen die Kurven für die log k-Werte ebenfalls nur verhältnismäßig wenig voneinander ab und verhindern eindeutige Schlußfolgerungen. Die oxydimetrische Bestimmung führte meist zu gleichen Werten für die verschiedenen Auszüge und Fraktionen (Übers. 4). Lediglich der Natronlauge-Auszug der Ausgangssubstanz enthält merklich geringere Mengen leicht löslicher Humusbegleitstoffe als die Auszüge der beiden Endsubstanzen. Die chemischen Ergebnisse beider Versuche bieten keinen sicheren Anhalt dafür, daß Huminal B unter den gegebenen Bedingungen der biologischen Zersetzung unterliegt. Demgegenüber liefern die bereits angeführten Atmungsversuche ebenso wie die später zu besprechenden biologischen Untersuchungen zuverlässige Beweise dafür, daß die Grundsubstanz dieses Düngers für Mikroorganismen doch angreifbar ist.



Versuch 2.
------ Huminal, Ausgangssubstanz
- - - - - - „ Endsubstanz

Versuch 3.
——— Huminal, Ausgangssubstanz
— — — „ Endsubstanz, unerhitzt
.... „ Endsubstanz, erhitzt

Abb. 6. Kolorimetrische Untersuchung von Huminal B.

In Versuch 2 hatte **Biohum** gegenüber allen anderen organischen Düngern die größten Veränderungen durchgemacht. Wie aus Abb. 7 und Übersicht 3 hervorgeht, war die lange Lagerung des Biohums mit einem erheblichen Anstieg der Löslichkeit in Natriumfluorid und einem ebenso deutlichen Abfall derselben in Natronlauge verbunden. Die Stabilitätszahl hat sich dementsprechend vergrößert, so daß die Huminsäuren zum größten Teil gebunden sein mußten. Neben den Oxydationswerten für die Extrakte (a-Werte) beweisen dies insbesondere die Permanganatzahlen (c-Werte) für die Huminsäuren im Natronlauge-Auszug. Die Abweichungen in den Tönungsfaktoren stehen mit diesen Feststellungen in Einklang, da ihre Werte durch relative Vermehrung der Humusbegleitstoffe ansteigen. Gesicherte Rückschlüsse auf biologisch bedingte Veränderungen der Biohumsubstanz lassen sich nicht ziehen, was bis zu einem gewissen Grad den Untersuchungen über die Mikroflora und ihre Tätigkeit entspricht.

Im Gegensatz zu Versuch 2 hat gemahlener Biohum während des Versuches 3 nach den kolorimetrischen Bestimmungen kaum Veränderungen erfahren. Lediglich die Kurven für unerhitzten Biohum liegen etwas unter

denen der Ausgangssubstanz. Die Tönungsfaktoren und Stabilitätszahlen geben keine eindeutigen Anhaltspunkte für Substanzveränderungen (Übers. 4). Gleiches gilt für die Oxydationswerte (a-Werte) der Fluorid-Auszüge, die nur innerhalb enger Grenzen schwanken. Wie in fast allen anderen Fällen verbrauchte der Natronlauge-Extrakt des Ausgangsmaterials mehr Permanganat als der der gelagerten Substanzen. Entsprechend den vorher erwähnten Düngern hat auch beim Biohum, und zwar besonders beim erhitzten Material, der aus den Fluorid-Auszügen fällbare Anteil (PQ-Werte) im Verlauf des Versuches eine Erhöhung erfahren, der aus den Natronlauge - Extrakten mit H_2SO_4 fällbare Anteil dagegen meist eine Abnahme. Danach scheint in Versuch 3 wiederum hauptsächlich eine Bindung von Huminsäuren an Kalk oder andere Bestandteile des Biohums, vielleicht an die tonigen aus dem Klärschlamm, eingetreten zu sein und zu den genannten geringen Substanzveränderungen geführt zu haben.

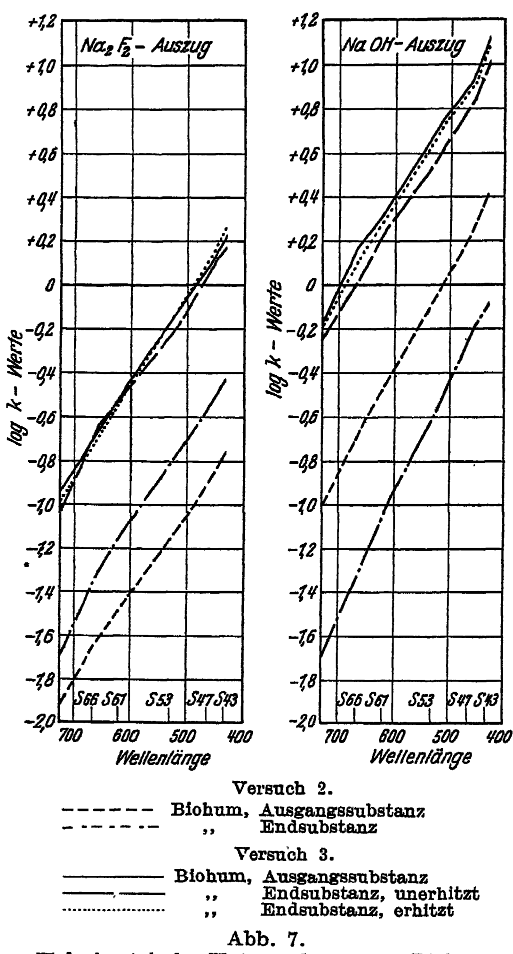
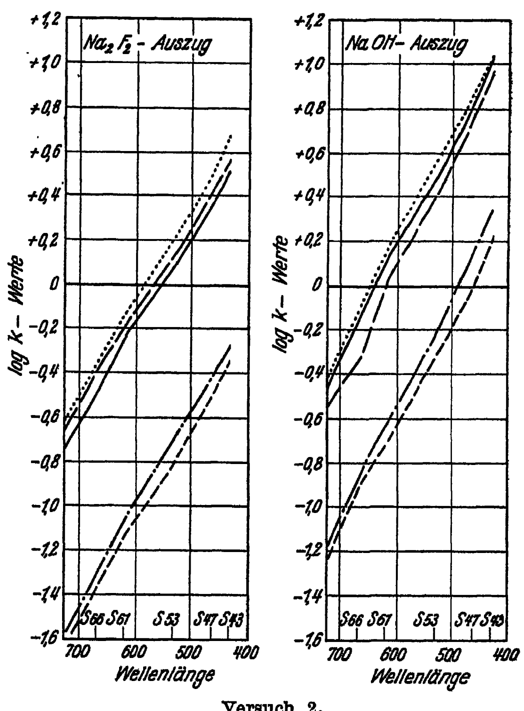


Abb. 7.
Kolorimetrische Untersuchung von Biohum.

Die zu **Kalklignin** in Versuch 2 gehörigen Befunde sind in Abb. 8 und Übersicht 3 enthalten. Die log k-Werte und Oxydationszahlen (a-Werte) für die Natriumfluorid- und Natronlauge - Auszüge beweisen übereinstimmend, daß die Löslichkeit der färbenden und oxydierbaren Substanzen während des Versuches in geringem Umfang zugenommen hat. Die Stabilitätszahlen blieben konstant, während die Tönungsfaktoren nur unbedeutende Veränderungen zeigten. Größere Unterschiede bestanden zwischen den Fällbarkeitsquotienten der Ausgangs- und Endsubstanz in Natriumfluorid sowie zwischen den a- und c-Werten der Natronlauge-Auszüge. Die Abweichung im ersten Fall ist durch den Mehrverbrauch an $KMnO_4$ für die Fulvosäuren, der nur wenig über die Fehlergrenze hinausgeht, bedingt, so daß die PQ-Werte keine gesicherte Auswertung zulassen. Die Erhöhung der a-Werte für die Natronlauge-Auszüge der Endsubstanz hängt wesentlich mit der Zunahme der löslichen Huminsäuren (c-Werte) zusammen. Möglicherweise ist diese Tatsache chemisch-physikalisch zu erklären, jedoch kann man ebenfalls eine biologische Bildung von Huminsäuren in Betracht ziehen.

Die kolorimetrischen Ergebnisse von Versuch 3 geben kein eindeutiges Bild, denn nach der Farbtiefe des Fluorid-Auszuges steht die erhitzte Endsubstanz an erster, die Ausgangssubstanz an letzter Stelle. Für den Natronlauge-Auszug gilt das gleiche hinsichtlich des erhitzten Endmaterials, während das nicht erhitzte Ausgangsmaterial hier den Platz vor dem gleich behandelten Endmaterial einnimmt. Bei dem letztgenannten ändert sich auch der Stabilitätsfaktor ziemlich deutlich und weist auf eine gewisse Zunahme in der Bindung der Huminsäuren hin. Hierfür liefern anscheinend die nichterhitzten organischen Dünger die günstigsten Bedingungen, da auch die entsprechenden Proben von Nettolin, Huminal B und Biohum die höchsten Stabilitätszahlen besaßen (Übers. 4). Die Tönungsfaktoren lassen nicht auf stoffliche Umwandlungen des Kalklignins schließen, jedoch geben die oxydimetrischen Werte der NaOH-Auszüge solche zu erkennen. Bei etwa gleicher Gesamtmenge oxydierbarer Substanzen in allen Lösungen sank nämlich der Anteil der Fulvosäuren bei dem gelagerten Material deutlich. Dementsprechend erhöhten sich die PQ-Werte. Diese Veränderungen scheinen biologische Ursachen zu haben.



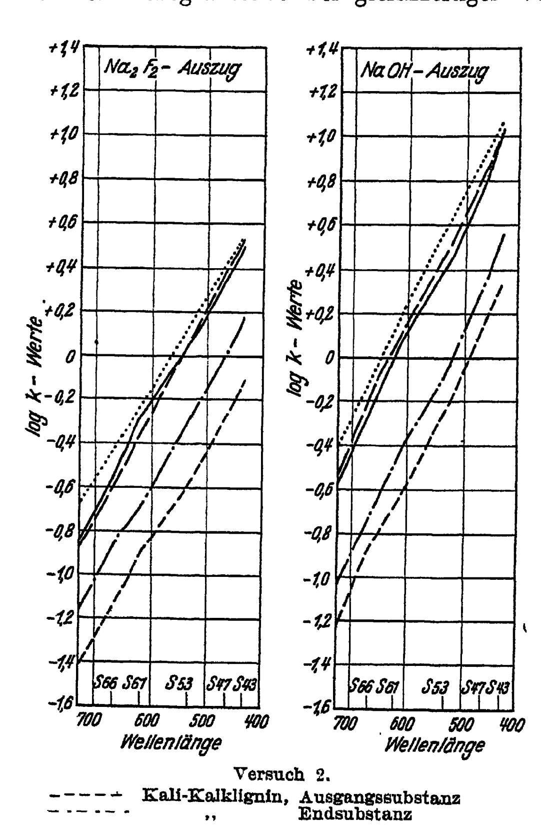
Versuch 2.
------ Kalklignin, Ausgangssubstanz
- - - - - - „ Endsubstanz
Versuch 3.
———— Kalklignin, Ausgangssubstanz
—— —— „ Endsubstanz, unerhitzt
.... „ Endsubstanz, erhitzt

Abb. 8. Kolorimetrische Untersuchung von Kalklignin.

Der Versuch 2 mit Kali-Kalklignin brachte ähnliche Ergebnisse wie der mit Kalklignin. Die Lösungen der Endsubstanz zeichneten sich gegenüber der der Anfangssubstanz durch eine tiefere Farbe und einen höheren Gehalt an oxydierbaren Stoffen aus, ohne daß die Farbtonwerte und Stabilitätszahlen in eindeutiger Weise verändert wurden (Abb. 9, Übers. 3). Bei annähernd gleichem Fulvosäuregehalt (b-Werte) stiegen die Permanganatwerte für die gesamte organische Substanz in den Fluorid- und Natronlauge-Auszügen im Verlauf des Versuches an. Dieser Anstieg beruht im wesentlichen auf der Zunahme des Huminsäure-Anteils (c-Werte) in den Lösungen. Obwohl chemisch-physikalische Vorgänge als Ursache dafür in Frage kommen, ist mit Rücksicht auf die Ergebnisse des zweiten Versuches eine biologische Synthese von Huminsäuren naheliegend.

In Versuch 3 wurden besonders hohe log k-Werte für das erhitzte Kali-Kalklignin gefunden. Das Absinken der Tönungsfaktoren weist wenigstens bei dem nicht erhitzten Material auf eine Vermehrung humusartiger Stoffe hin

(Übers. 4). Unter Berücksichtigung der c-Werte von Versuch 2 sowohl mit Kali-Kalklignin als auch mit Kalklignin ist anzunehmen, daß daran hauptsächlich die Huminsäuren beteiligt sind. Der Anteil an Fulvosäuren (b-Werte) hat sich nämlich während der Lagerung verringert, der aus der Differenz a—b zu errechnende Teil fällbarer Stoffe dagegen vergrößert. Die PQ-Werte bringen dies sinngemäß zum Ausdruck. Die ungewöhnlich starke Verminderung der Humusbegleitstoffe bei gleichzeitiger Vermehrung der fällbaren Substanzen macht es wahrscheinlich, daß Kali-Kalklignin unter Bildung echter Humusstoffe durch Kleinlebewesen angegriffen wurde.



Versuch 2.
- - - - - Kali-Kalklignin, Ausgangssubstanz
- · - · - ,, Endsubstanz

Versuch 3.
———— Kali-Kalklignin, Ausgangssubstanz
— — — ,, Endsubstanz, unerhitzt
.... ,, Endsubstanz, erhitzt

Abb. 9.
Kolorimetrische Untersuchung von Kali-Kalklignin.

b) Biologische Untersuchung. — Vergleicht man die in den Abb. 10 u. 11 wiedergegebenen Kurven der Versuche 2 und 3 miteinander, so kann man einen wesentlichen Unterschied feststellen. Dieser kommt in dem Mengenverhältnis der aeroben Bakterien zu den Aktinomyzeten zum Ausdruck, das sich aus dem Abstand der entsprechenden Kurven voneinander ergibt. Nach Abb. 10 waren die Aktinomyzeten in Versuch 2 den aeroben Bakterien zahlenmäßig fast immer überlegen oder höchstens anfänglich etwas unterlegen. In Versuch 3 hatten dagegen ausnahmslos die aeroben Bakterien die Oberhand über die Aktinomyzeten. Diese auffallende Tatsache ist dadurch bedingt, daß die Keimzahlen der aeroben Bakterien in den Dünger-Sand-Gemischen viel höher als in den Komposten ohne Sandzusatz und die der Aktinomyzeten in geringerem Ausmaß tiefer liegen. Die Unterschiede zwischen den Ergebnissen beider Versuche sind so erheblich, daß sich grundsätzlich verschiedene Umsetzungen abgespielt haben müssen. Bemerkenswerterweise findet diese Schlußfolgerung eine Bestätigung in den chemischen Ergebnissen.

Wie die Übersichten 3 und 4 gezeigt haben, kam die verschiedene Beschaffenheit der organischen Dünger infolge des Mahlens und Vermischens mit Sand schon vor Beginn des Versuches in ihrem Verhalten gegenüber den Lösungsmitteln deutlich zum Ausdruck. So wurden vor der Lagerung in Versuch 3 ausnahmslos mehr oxydierbare Stoffe durch Natriumfluorid in

Lösung gebracht als in Versuch 2. Das gleiche gilt mit einer Ausnahme für die Natronlauge-Auszüge. Die Farbtonwerte der Fluorid-Auszüge und die Stabilitätszahlen beider Versuche deuten an, daß sogar das Mengenverhältnis der einzelnen Stoffgruppen zueinander durch die erwähnte Behandlungsweise beeinflußt wurde. Es ist verständlich, daß durch diese bereits vor Beginn der biologischen Umsetzungen vorhandenen Unterschiede die Lebensvorgänge in den lagernden Düngern eine verschiedene Richtung erhielten. In Versuch 3 war die Zersetzlichkeit der organischen Substanz bedeutend größer als in Versuch 2, wie die wesentlich höhere Keimdichte bewies. Die Abweichungen in den Keimzahlen fallen noch stärker ins Gewicht, wenn man berücksichtigt, daß das Untersuchungsmaterial in Versuch 3 durch die Verdünnung mit Sand nur ein Fünftel der organischen Substanz wie in Versuch 2 besaß.

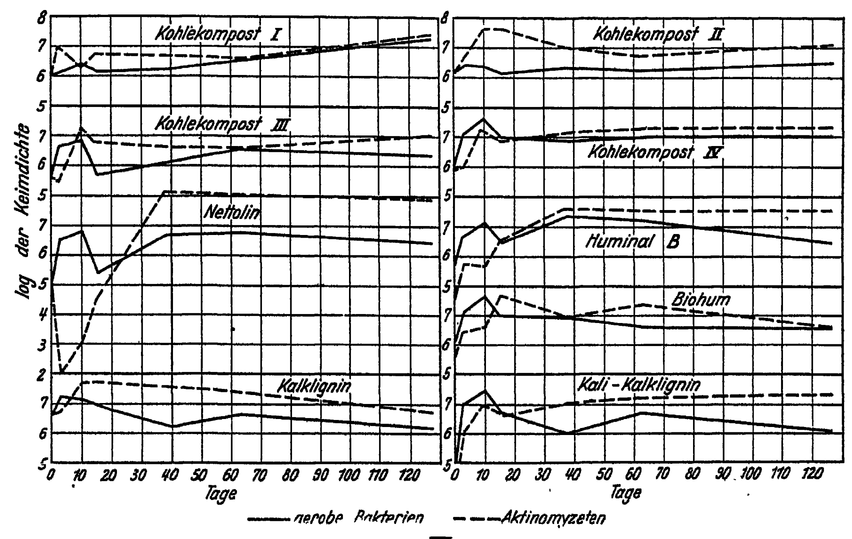


Abb. 10. Keimgehalt der Dünger im ersten Zersetzungsversuch.

Aus vorstehenden Tatsachen ergibt sich zunächst die Frage, ob die erwähnte Änderung im biologischen Verhalten der organischen Substanz, d. h. die Umschichtung der Aktinomyzeten- und Bakterienflora, durch das Mahlen der Komposte und Dünger oder durch das Vermischen mit Sand bedingt war. Eine Klärung dieser Frage ermöglichen die bakteriologischen Untersuchungsergebnisse des Atmungsversuches. Dort gelangten die Komposte in ungemahlenem Zustand mit Boden gemischt zur Verwendung. Wie Abb. 2 zeigt, waren die Aktinomyzeten, wenn man von der Hubadüngung absieht, den aeroben Bakterien zahlenmäßig im allgemeinen überlegen. Das Bild ist also ganz anders wie in Versuch 3 mit gemahlenen Düngern, wo die aeroben Bakterien immer stark vorherrschten. Es ähnelt vielmehr den Verhältnissen in Abb. 10 von Versuch 2 mit dem ungemahlenen Material ohne Boden, obwohl hier die Aktinomyzeten, insbesondere beim Nettolin, noch deutlicher in den Vordergrund treten. Aus diesen Befunden geht hervor, daß die völlige Umschichtung der Mikroflora zugunsten der aeroben Bakterien in Versuch 3 wohl auf das Mahlen der Komposte und Dünger zurückzuführen ist. Der pulverförmige Zustand bedeutet physikalisch eine erhebliche Vergrößerung ihrer Oberfläche und damit auch der Angriffsfläche für die Mikroorganismen.

Hierauf beruhte gleichfalls das veränderte Verhalten der organischen Substanzen gegenüber den Lösungsmitteln. Allerdings darf man nicht übersehen, daß zu Versuch 1 natürlicher Boden, zu Versuch 3 dagegen reiner Sand verwendet wurde.

Offensichtlich bestehen also Beziehungen zwischen dem physikalischen Zustand der organischen Substanz und den biologischen Vorgängen. Wie gezeigt wurde, hatten diese während der verhältnismäßig kurzen Versuchsdauer zu chemisch nachweisbaren Veränderungen in der stofflichen Zusammensetzung der organischen Substanz geführt. Wertet man die chemischen Ergebnisse von Versuch 2 und 3 in Verbindung mit den biologischen aus, so kommt man zu folgenden Feststellungen. In den Fällen, in denen die Aktinomyzeten über die aeroben Bakterien vorherrschen, wie es für Versuch 2 zutrifft, nimmt die Löslichkeit der organischen Substanz infolge der Bedingungen bei der Lagerung im allgemeinen zu. Dort dagegen, wo die aeroben Bakterien die Oberhand haben, was für Versuch 3 gilt, ist bei fast allen Natronlauge-Auszügen das Gegenteil zu erkennen. Die Zunahme extrahierbarer Stoffgruppen in Versuch 2 beruht also hauptsächlich auf der Tätigkeit der Aktinomyzeten und weniger auf der der aeroben Bakterien. Andererseits scheinen die aeroben Bakterien in Versuch 3 für das Schwinden eben dieser Verbindungen verantwortlich gemacht werden zu müssen. Jedoch liegen die Verhältnisse verwickelter, als man nach diesen Feststellungen vermuten könnte, da keine strenge Parallelität zwischen den einzelnen Befunden besteht.

Durch Versuch 3 sollte ferner geprüft werden, in welcher Weise die Zersetzlichkeit der organischen Substanz durch ihre Erhitzung beeinflußt wird und ob hier Unterschiede bestehen, die auf die Zusammensetzung der Komposte und Dünger aus den verschiedenen Grundstoffen, Braunkohle, Torf und Lignin, zurückzuführen sind. Das Ergebnis der biologischen Untersuchungen darüber ist aus Abb. 11 zu ersehen. Sie zeigt zunächst, daß die Erhitzung eine mehr oder minder deutliche Vermehrung der aeroben Bakterien zur Folge hatte, die allerdings häufig nur zu Beginn des Versuches in Erscheinung trat. Im Gegensatz dazu hatte sich die Keimdichte der Aktinomyzeten meist verringert. Diese Tatsachen wirkten sich in der Weise aus, daß die Kurven der aeroben Bakterien und Aktinomyzeten in der Reihe mit erhitztem Material weiter auseinanderrückten.

Die Erhitzung äußerte sich demgemäß biologisch ähnlich wie das Mahlen der Komposte, da in beiden Fällen die Bakterientätigkeit gesteigert und die der Aktinomyzeten herabgesetzt wurde. Während die biologischen Vorgänge einerseits weitgehend von dem physikalischen Zustand der organischen Substanz abhängen, sind sie andererseits die Voraussetzung für deren chemische Veränderungen während der Lagerung. Es bedarf aber weiterer Untersuchungen, diese Zusammenhänge zu klären. Daher soll hier keine ins einzelne gehende Beurteilung der Vorgänge in den Komposten und Düngern stattfinden. Dagegen erscheint es von Bedeutung, ihr biologisches Verhalten in Abhängigkeit von dem jeweiligen organischen Grundstoff zu prüfen.

Die Kohlekomposte weisen in Versuch 2 meist ziemlich niedrige Keimzahlen an Aktinomyzeten und vor allem an aeroben Bakterien auf, was auf geringe Umsetzungen schließen läßt. Dies trifft auch für Kompost I zu. Man muß daher annehmen, daß der darin enthaltene Stallmist schon weitgehend vergoren ist. Mit Ausnahme von Kohlekompost II liegen die Kurven der Aktinomyzeten nur etwas höher als die der aeroben Bakterien, worin sich eine geringe Angreifbarkeit der Materialien sogar durch diese Organismen ausdrückt. Kohlekompost II weist nach einer anfänglich be-

sonders starken Entwicklung der Aktinomyzeten auch weiterhin beträchtliche Mengen daran auf, so daß ihre Keimzahlen die der aeroben Bakterien stets um das Mehrfache übertreffen. Der gleiche Kompost zeichnete sich

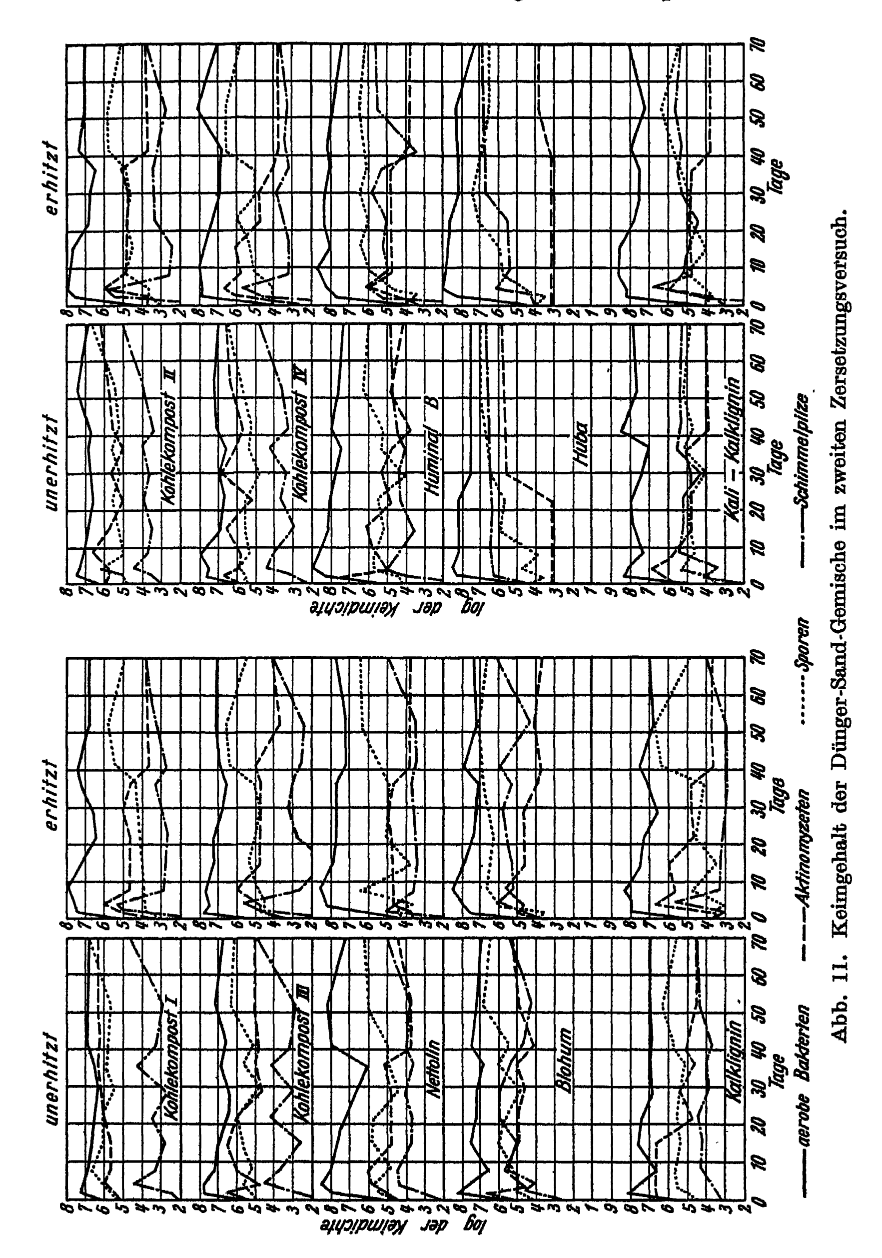


Abb. 11. Keimgehalt der Dünger-Sand-Gemische im zweiten Zersetzungsversuch.

auch chemisch dadurch vor den übrigen aus, daß der Fällbarkeitsquotient und Farbtonwert seines Fluorid-Auszuges während der Lagerung besonders stark verändert wurden. Wahrscheinlich stehen also diese Ergebnisse mit der Tätigkeit der zahlreichen Aktinomyzeten in ursächlichem Zusammenhang.

Es wäre wünschenswert, durch weitere Untersuchungen eine Bestätigung dafür erlangen zu können.

Wie schon ausgeführt wurde, war in Versuch 3 überall eine deutliche Umschichtung in der Mikroflora der aeroben Bakterien und Aktinomyzeten eingetreten, die sich bei den nicht erhitzten Torf- und Lignindüngern stärker bemerkbar machte als bei den entsprechenden Kohlekomposten. Bei diesen bleibt also das Zahlenverhältnis zwischen den genannten Keimgruppen enger. In Zusammenhang mit der Bakterienflora zeugen die verhältnismäßig hohen Sporenwerte von einer verminderten Tätigkeit. Daraus geht von neuem hervor, daß die Kohlekomposte aus schwer angreifbaren Substanzen bestehen, deren Zersetzlichkeit durch Mahlen in geringerem Maße gesteigert wird als die der Torf- und Lignindünger.

Durch die Erhitzung des Mahlgutes wird die Angreifbarkeit aller vier Kohlekomposte erheblich gefördert, was sich daraus ergibt, daß die Zahl der aeroben Bakterien eine deutliche Steigerung erfährt, während die Sporenwerte sinken. Gleichzeitig verringert sich die Tätigkeit der Aktinomyzeten, ohne daß sich die der Schimmelpilze nennenswert verändert. Dementsprechend erweitert sich im allgemeinen das Zahlenverhältnis zwischen den aeroben Bakterien und Aktinomyzeten. Die Keimdichte der Aktinomyzeten und Sporen verändert sich also im ganzen genommen gleichlaufend und in entgegengesetzter Richtung wie die der aeroben Bakterien. Diese Erscheinung steht mit der schon in Versuch 1 festgestellten Gegenläufigkeit in der Entwicklung der aeroben Bakterien und Aktinomyzeten in Einklang.

Zwischen den chemischen und biologischen Eigenschaften der Kohlekomposte bestehen gewisse Parallelen, die großenteils schon besprochen worden sind. Hier sei noch hervorgehoben, daß die Oxydationswerte für die Fulvosäuren meist zunahmen, wenn die aeroben Bakterien wie in Versuch 2 zurücktraten, dagegen abnahmen, wenn sie wie in Versuch 3 die Oberhand gewannen. Nur bei Kompost II kehren sich die Verhältnisse für die Natriumfluorid-Auszüge beider Versuche um oder bleiben fast unverändert. Es ist der Kompost, der biologisch auch im übrigen eine Sonderstellung einnahm.

Die Torfdünger Huminal B, Nettolin und Biohum unterscheiden sich durch die biologischen Ergebnisse der Versuche 2 und 3 mehr oder minder deutlich von den Kohlekomposten. In Versuch 2 mit den ungemahlenen Düngern ohne Sand enthalten die Torfkomposte durchschnittlich mehr Aktinomyzeten als die Kohlekomposte, wenn man von der Anfangsentwicklung in Kompost II absieht. Offenbar unterliegt die organische Substanz der Torfdünger dem Angriff der Aktinomyzeten eher als die der Kohlekomposte.

Zwischen den drei genannten Torfdüngern bestehen in dieser Hinsicht allerdings starke Unterschiede. Biohum weist die niedrigsten Keimzahlen auf und kommt dadurch den Kohlekomposten noch am nächsten, was wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, daß dieser Dünger schon bei seiner Herstellung stärkere Umsetzungen durchgemacht hat, während Huminal B ein unvergorenes und Nettolin ein wenig vergorenes Material darstellen. Nettolin enthält nach anfänglicher Keimarmut besonders zahlreiche Aktinomyzeten. Mit Rücksicht auf den Gehalt dieses Düngers an desinfizierenden Teerprodukten ist zu vermuten, daß hier eine ähnliche Erscheinung vorliegt wie bei der „partiellen Sterilisierung" des Bodens (12). Bekanntlich hat die Abtötung der Keime darin später eine starke Vermehrung zur Folge. Jedenfalls muß die entwicklungshemmende Wirkung der Teerprodukte im Nettolin während des Versuches völlig beseitigt worden sein. Huminal B nimmt in bezug auf die Aktinomyzeten eine Mittelstellung zwischen Netto-

lin und Biohum ein, bietet jedoch den aeroben Bakterien etwas günstigere Lebensbedingungen als Nettolin.

Die wiederholt erwähnte Umschichtung der Mikroflora in Versuch 3 ist bei den Torfdüngern stärker ausgeprägt als bei den Kohlekomposten. Die Kurven der aeroben Bakterien liegen nämlich bei ihnen durchschnittlich höher, die der Aktinomyzeten dagegen tiefer als bei den letztgenannten. Biohum steht auch in dieser Hinsicht wieder den Kohlekomposten näher als Nettolin und Huminal B. Der Rottegrad des Biohums drückt sich also gegenüber dem vorhergehenden Versuch hier nicht nur in dem absoluten Abstand der Kurven voneinander aus sondern auch in dem geringeren Maße der Umschichtung. Das Ergebnis läßt darauf schließen, daß Nettolin und Huminal B im Laufe der Versuche stärker umgewandelt wurden als Biohum. Es hängt von dem physikalischen Zustand der organischen Substanz ab, ob diese Umwandlung mehr durch aerobe Bakterien oder Aktinomyzeten erfolgt. Durch die Erhitzung des Mahlgutes erweiterte sich das Verhältnis der Keimzahlen bei Biohum noch deutlich, während dies beim Nettolin und Huminal B nur in schwachem Grade der Fall war. Bei diesen wurde der Höhepunkt der Bakterienentwicklung schon durch das Mahlen erreicht.

Eine Sonderstellung nimmt wie in Versuch 1 wieder Huba ein, der nur in Form des Dünger-Sand-Gemisches geprüft wurde. Bei ihm war das Verhältnis zwischen aeroben Bakterien und Aktinomyzeten auffallend weit. Durch die Erhitzung mit Dampf vergrößerte sich dies noch, da äußerst geringe Aktinomyzetenzahlen, rund 1000 je Gramm, ungewöhnlich hohen Bakterienzahlen, nämlich 100—1000 Millionen, gegenüberstanden. Diese Tatsachen stehen sowohl mit dem hohen Gehalt des Hubas an leicht zersetzlichen Kohlehydraten als auch mit der Aufschließung des chemisch behandelten Torfes durch die Erhitzung in Verbindung und entsprechen den Ergebnissen von Versuch 1. Der Befund rechtfertigt also die Annahme, daß die Keimdichte der aeroben Bakterien im Vergleich zu der der Aktinomyzeten über die Zersetzlichkeit und damit die Bedeutung eines Humusdüngers für die Anreicherung des Bodens an wertvollen Humusstoffen Aufschluß gibt.

Die Lignindünger nehmen in ihrem biologischen Verhalten etwa eine Mittelstellung zwischen den Kohlekomposten einerseits und Nettolin und Huminal B andererseits ein. In Versuch 2 erreichen die Aktinomyzetenzahlen der erstgenannten Dünger bei weitem nicht die gleiche Höhe wie die von Nettolin, jedoch sind sie durchschnittlich größer als die der Kohlekomposte, ausgenommen Kompost II. Die Mittelstellung zeigt sich auch in dem verschiedenen Abstand der Kurven zwischen aeroben Bakterien und Aktinomyzeten, der beim Lignin zwar größer als bei den Kohlekomposten, aber kleiner als beim Nettolin ist. Die Lignindünger werden also besser als die Komposte von den Aktinomyzeten ausgenutzt. Hiermit dürfte die Veränderung fast aller Werte der Natronlauge- und Fluorid-Auszüge zusammenhängen, die eine deutliche Zunahme in der Löslichkeit der organischen Substanz vor allem beim Kali-Kalklignin und einen steigenden Gehalt an Fulvosäuren und Huminsäuren erkennen lassen.

In Versuch 3 haben die aeroben Bakterien auch bei den Lignindüngern eindeutig die Vorherrschaft gewonnen. Das Verhältnis der aeroben Bakterien zu den Aktinomyzeten ist ziemlich weit und entspricht etwa dem bei Huminal B. Wie insbesondere aus den Sporenwerten hervorgeht, ist die Bakterientätigkeit in dem erhitzten und besonders in dem nicht erhitzten Kali-Kalklignin größer als in dem entsprechenden Kalklignin. Durch die Erhitzung des Mahlgutes steigert sie sich allerdings beim Kalklignin, beim Kali-

Kalklignin jedoch kaum. Die Keimdichte der Aktinomyzeten bleibt durch die Erhitzung in beiden Fällen fast unberührt. Die chemischen Ergebnisse von Versuch 3 weisen im allgemeinen keine eindeutige Parallele mit den Gärungsvorgängen auf, die aber in der Verminderung der Fulvosäuren bei gleichzeitigem Anstieg der mit Schwefelsäure fällbaren Substanz zu erkennen ist. Jedenfalls scheint aus den chemischen und biologischen Ergebnissen von Versuch 2 und 3 hervorzugehen, daß die Aktinomyzeten die Lignindünger unter Bildung von Rotteprodukten wie Fulvosäuren und Huminsäuren umwandeln, die aeroben Bakterien dagegen die Fulvosäuren zersetzen.

Unter Modifizierung von Versuch 2 wurde ein weiterer Versuch mit den 4 Kohlekomposten, mit Kalklignin und Kali-Kalklignin unter Zusatz von mineralischen Pufferstoffen angelegt. Die Ergebnisse dieses Versuches unterschieden sich jedoch kaum von denen des ersten, so daß auf ihre Beschreibung verzichtet werden kann. Offenbar kam dem Zusatz puffernder Stoffe unter den gegebenen Bedingungen keine besondere Bedeutung für die biologischen Vorgänge zu.

4. Versuch mit chemisch reinen Stoffen.

Zur Sicherstellung der bisherigen Ergebnisse und weiteren Klärung der damit zusammenhängenden Fragen sollte ein Versuch mit chemisch reinen Stoffen durchgeführt werden. Schwach humoser Sandboden wurde einmal mit einer leicht zersetzlichen Substanz, Albumin, und ein anderes Mal mit einer schwerer zersetzlichen, Zellulose, vermischt. Bei diesen Zusätzen handelte es sich um reinste Stoffe von E. Merck, die in pulverisierter Form angewendet wurden. Ein Boden ohne Düngung und einer mit mineralischer Volldüngung dienten zum Vergleich. Versuchsanordnung und Düngermengen gehen aus folgender Übersicht hervor:

1. 250 g Boden ohne Zusätze
2. 250 g Boden mit 0,1% K_2HPO_4 und 0,1% $(NH_4)_2SO_4$
3. 250 g Boden mit 3% Zellulose
4. 250 g Boden mit 1% Albumin

Der Boden wurde nach Anfeuchten mit destilliertem Wasser auf 60% seiner Wasserkapazität in weiten Glasschalen locker gelagert und bei einer konstanten Temperatur von 20° C gehalten. Das verdunstete Wasser wurde stets wieder ersetzt. Die Versuchsdauer betrug 60 Tage. Während dieser Zeit wurden die p_H-Werte sowie die Keimzahlen der aeroben Bakterien und Aktinomyzeten sofort und nach 3, 7, 14, 29, 49 und 120 Tagen bestimmt. Die Ermittlung der Keimzahlen erfolgte nach den bei Versuch 1 beschriebenen Methoden. Die Ergebnisse sind in Abb. 12 graphisch dargestellt worden.

In allen Böden herrschten stets die aeroben Bakterien gegenüber den Aktinomyzeten vor, wenn auch nicht in dem Maße wie in Versuch 3. Zu Beginn des Versuches trat infolge der Behandlung des Bodens allgemein eine kurzdauernde, starke Erweiterung in dem Mengenverhältnis zwischen beiden Organismengruppen ein. Im weiteren Verlauf unterschieden sich jedoch die einzelnen Ansätze deutlich voneinander. Die stärkste Zunahme der Bakterienzahlen hatte Albumin hervorgerufen. Gleichzeitig wies dieser Ansatz die schwächste Aktinomyzetenflora auf, so daß hier die Kurven der beiden Keimgruppen den weitesten Abstand voneinander haben. Dies hängt zweifellos mit der starken Zersetzlichkeit des Albumins zusammen.

Wesentlich anders verhielt sich der mit Zellulose gedüngte Boden, da diese offenbar die Aktinomyzeten begünstigte, ohne daß sie die Bakterien-

flora erheblich veränderte. Darin drückt sich die geringere Zersetzlichkeit der Zellulose aus, die in anderer Weise als das Albumin umgewandelt wird. Bemerkenswerterweise hat die mineralische Düngung das Mengenverhältnis der genannten Keimgruppen nur unerheblich verändert. Die Sporenkurven zeigen zu dem verschiedenen Verhalten der aeroben Bakterien und Aktinomyzeten insofern eine Beziehung, als sie sich bei den organisch gedüngten Böden weitgehend den Kurven der Aktinomyzeten anschließen. Die Ergebnisse bestätigen also die auf Grund der vorangehenden Versuche gemachte Annahme, daß zwischen der Zersetzlichkeit eines in den Boden gebrachten organischen Materials einerseits und den aeroben Bakterien und Aktinomyzeten andererseits enge Wechselwirkungen bestehen. Dabei tritt ein Antagonismus zwischen den beiden Keimgruppen deutlich in Erscheinung.

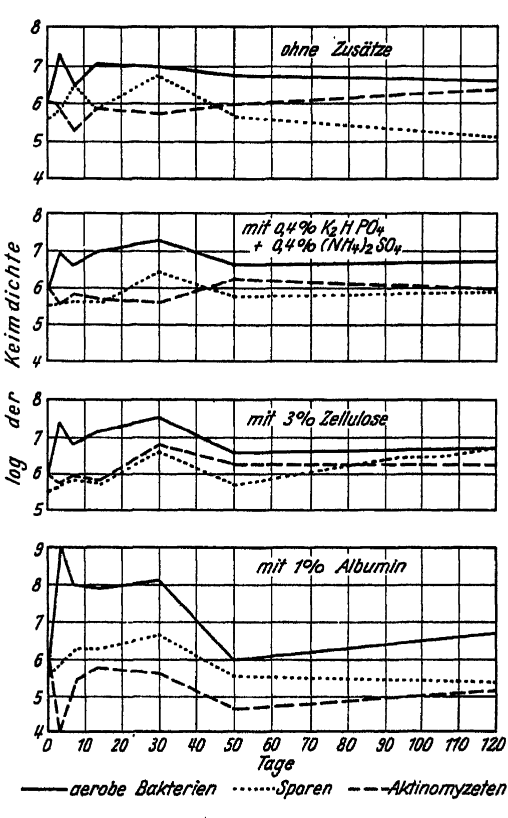


Abb. 12.
Zersetzungsversuch mit reinen Ausgangsstoffen.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Komposte und Handelshumusdünger, zwei Kohlekomposte nach K. Schliephacke, zwei nach F. Bornemann, Biohum, Nettolin, Huminal B, Huba, Kalklignin und Kali-Kalklignin, auf ihre Zersetzlichkeit unter genauer festgelegten Bedingungen geprüft. Dabei ergaben sich zwischen dem physikalischen Zustand und der stofflichen Zusammensetzung der organischen Substanz einerseits, den chemischen und biologischen Veränderungen andererseits Beziehungen, die für eine vergleichende Prüfung von Humusdüngern und ihre Beurteilung für bodenkundliche Zwecke von großer Bedeutung sind. Im einzelnen konnten folgende Ergebnisse gewonnen werden.

1. In einem Atmungsversuch mit schwach humosem, leicht lehmigem Sand zeigten die einzelnen Dünger ein sehr unterschiedliches Verhalten. Huba übte infolge seines hohen Gehaltes an leicht zersetzlichen Kohlehydraten den stärksten Einfluß auf die Bodenatmung aus. Ihm schloß sich in weitem Abstand Nettolin an, dem Huminal B und Kalklignin folgten, während Braunkohle-Torfkompost und Biohum die geringste Wirkung hatten. Die zuletzt genannten Dünger unterlagen einer langsamen, aber gleichmäßigen Zersetzung. Die Kohlensäurebildung beruhte bei den einzelnen Düngern auf der Tätigkeit verschiedener Organismengruppen. Während es bei Huba

aerobe Bakterien waren, handelte es sich bei den übrigen Düngern neben zellulosezersetzenden Bakterien hauptsächlich um Schimmelpilze. Die Ergebnisse des Atmungsversuches lassen Rückschlüsse über die Umwandlung und den Verbleib der organischen Dünger und ihrer Bestandteile im Boden zu.

Einer Kohlensäurebildung stand in anderen Fällen eine weniger tiefgreifende Umwandlung der organischen Substanz gegenüber, die durch eine starke Entwicklung der Aktinomyzeten gekennzeichnet war. Die Fähigkeit dieser Organismen zur Mineralisierung ist offenbar sehr gering. Sie traten vorwiegend bei den Düngern mit schwer zersetzlichen und biologisch noch unveränderten Grundsubstanzen wie Kalklignin und Huminal B deutlich in Erscheinung. Man kann daraus schließen, daß die Aktinomyzeten bei der Humifizierung dieser Stoffe eine große Rolle spielen.

2. In zwei besonderen Zersetzungsversuchen waren auf Grund chemischer und biologischer Untersuchungen wichtige Zusammenhänge zwischen dem physikalischen Zustand der organischen Dünger und den biologischen Vorgängen darin während der Lagerung festzustellen. Bei diesen Rottevorgängen machten sich nachweisbare Veränderungen in der stofflichen Zusammensetzung der organischen Substanz bemerkbar. Wurden die Dünger, so wie sie waren, verwendet, gelangten hauptsächlich die Aktinomyzeten zur Entwicklung, denen gegenüber die aeroben Bakterien zurücktraten. Kamen sie jedoch gemahlen und mit Sand gemischt zur Verwendung, ließ sich eine mehr oder weniger starke Umschichtung der Mikroflora beobachten, infolge deren die aeroben Bakterien weitaus vorherrschten. Während in dem zuerst genannten Fall die Löslichkeit der organischen Substanz bei der Lagerung meist zunahm, verringerte sie sich im zweiten Fall wenigstens bezüglich der Natronlauge-Auszüge. Nach den chemischen und biologischen Untersuchungsergebnissen sind also die Aktinomyzeten in hohem Maß an der Umwandlung der organischen Dünger unter Bildung von Rotteprodukten wie Fulvosäuren und Huminsäuren beteiligt, die aeroben Bakterien offenbar an der Zersetzung der Fulvosäuren.

Eine vorherige Erhitzung der Dünger verstärkte noch die Wirkung des Mahlens, so daß die Tätigkeit der Bakterien weiter gesteigert und die der Aktinomyzeten vermindert wurde. Sie bedeutete somit eine Aufschließung der Humusdünger. Das Mengenverhältnis der aeroben Bakterien zu den Aktinomyzeten war außer vom physikalischen Zustand auch von der stofflichen Zusammensetzung der Dünger abhängig. Bei schwer zersetzlichem Material wie Kohlekomposten oder bei gut verrottetem Torfdünger wie Biohum waren die zahlenmäßigen Unterschiede zwischen den beiden Keimgruppen verhältnismäßig gering, dagegen bei Huba und bis zu einem gewissen Grade auch bei Huminal B ziemlich groß. Diese Beziehung gestattet, wichtige Schlußfolgerungen über den Rottegrad der organischen Dünger zu ziehen.

3. In einem letzten Versuch wurde ein Boden mit einem leicht zersetzlichen Stoff, Albumin, und einem schwerer zersetzlichen, Zellulose, vermischt. Auch hier machte sich der Antagonismus zwischen den aeroben Bakterien und Aktinomyzeten deutlich bemerkbar. Dies führte dazu, daß sich das Keimzahlenverhältnis im ersten Fall infolge Vermehrung der aeroben Bakterien erweiterte, im zweiten dagegen infolge der der Aktinomyzeten verengte.

Nach diesen Feststellungen gibt also die biologische Untersuchung von Humusdüngern, gestützt auf kolorimetrische und oxydimetrische Bestim-

mungen, Aufschluß über ihren Gehalt an leichter und schwerer zersetzlichen Stoffen sowie über ihren Rottegrad. Die gewonnenen Erkenntnisse können zu einer vergleichenden Prüfung und Beurteilung von organischen Düngern dienen und die Grundlage für eine Methode bilden, mit der man ihre Bedeutung für die Anreicherung wertvoller Humusstoffe im Boden und die Erhöhung seiner Fruchtbarkeit feststellt.

Schrifttum.

1. Flieg, O., Zur Frage der Bewertung von Humusdüngemitteln. (Forschungsdienst. Sonderh. 6. 1937. S. 258.) — 2. Simon, K., Die charakteristischen Humusstoffe, ihre Beurteilung und ihre Bedeutung im Stalldünger. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 1. 1936. S. 257.) — 3. Siegel, O., Die Bestimmung der humifizierten Substanz im Stallmist. (Forschungsdienst. Sonderh. 7. 1938. S. 135.) — 4. Springer, U., Die Bestimmung der organischen, insbesondere der humifizierten Substanz in Böden. (Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkunde. Bd. 11. 1928. S. 313.) — 5. Simon, K., Über die Herstellung von Humus-Extrakten mit neutralen Mitteln. (Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkunde. Bd. 14. 1929. S. 252.) — 6. Popp, M., Die Beurteilung von Humusdüngemitteln. (Forschungsdienst. Bd. 1. 1936. S. 746.) — 7. Springer, U., Zur Kenntnis einiger bekannter Handelshumusdüngemittel, ein Beitrag zu ihrer Beurteilung und Bewertung. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 3. 1937. S. 139.) — 8. Scheffer, F., Untersuchungen über den Lignin- und Lignin-Proteinkomplex. (Forschungsdienst. Sonderh. 2. 1936. S. 145.) — 9. Bach, F., Ein Beitrag zur Charakterisierung der Humusstoffe. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 11. 1938. S. 283.) — 10. Janke, A., Sekera, F. und Szilvinyi, A., Mikrobiologische Bodenuntersuchungen im Lunzer Gebiet. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 223.) — 11. Ziemiecka, J., The use of a modefied Rossi-Cholodny-technic for studying the organisms that decompose certain organic compounds in soil. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1935. S. 379.) — 12. Rippel, A., Vorlesungen über Bodenmikrobiologie. Berlin (J. Springer) 1933. — 13. Rippel, A., Über Eiweißbildung durch Bakterien. I. Erfahrungen bei der Herstellung einer synthetischen Nährlösung mit Glykokoll als Stickstoffquelle. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 8. 1937. S. 41.) — 14. Meyer, R., Beiträge zur Kenntnis der Zellulosezersetzung unter niedriger Sauerstoffspannung. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 185.) — 15. Lieske, R., Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Leipzig (Verlag Borntraeger) 1921. — 16. Krainsky, A., Die Aktinomyzeten und ihre Bedeutung in der Natur. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 41. 1914. S. 649.) — 17. Bokor, R., Mycoccus cythophagus n. sp. 1929. Diss. Göttingen 1929. — 18. Stapp, C. und Bortels, H., Mikrobiologische Untersuchungen über die Zersetzung von Waldstreu. I. Mitt. (Zentralbl. f. Bak. Abt. II. Bd. 90. 1934. S. 28.) — 19. Norman, A. G., The biological decomposition of plant materials. IV. The biochemical activity on straws of some cellulose-decomposing fungi. Ann. appl. Biol. Vol. 18. 1931. p. 244.) — 20. Jensen, H. L., Die verholzte Zellwand und ihre Widerstandsfähigkeit gegen bakteriellen Angriff. Diss. Münster 1937. — 21. Rippel, A., Mikrobiologie des Bodens. (E. Blanck, Handb. d. Bodenlehre. Verlag J. Springer, Berlin. I. Erg.-Bd. 1939. S. 440.) — 22. Waksman, S. A., and Hutchings, I. J., Associative and antagonistic effects of mikroorganisms. III. Associative and antagonistic relationships in the decomposition of plant residues. (Soil Science. Vol. 43. 1937. p. 77.) — 23. Waksman, S. A., and Smith, H. W., Transformation of the methoxyl group in lignin in the process of decomposition of organic residues by microorganisms. (Journ. amer. chem. Soc. Vol. 56. 1934. p. 1225.) — 24. Waksman, S. A., and Diehm, R. A., On the decomposition of hemicellulose by microorganisms. (Soil Science. Vol. 32. 1931. p. 73, 97 a. 119.) — 25. Waksman, S. A., Die Rolle der Mikroorganismen bei der Torfbildung. (Brennstoff-Chemie. Bd. 13. 1932. S. 241.) — 26. Jensen, H. L., The microbiology of farmyard manure decomposition in soil. (Journ. agricult. Science. Vol. 22. 1932. p. 1.) — 27. Schmidt-Lange, W. und Bucherer, H., Die Chitinolyse pathogener Aktinomyzeten. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 120. 1938. S. 304. Ref. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 99. 1938/39. S. 466.) — 28. Söhngen, N. L., Benzin, Petroleum, Paraffinöl und Paraffin als Kohlenstoff- und Energiequelle für Mikroben. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. 1913. S. 595.) — 29. Söhngen, N. L. und Fol, I. G., Die Zersetzung des Kautschuks durch Mikroben. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 40. 1914. S. 87.) — 30. Cholodny, N. G., Bodenstaubkulturen und die Mikroflora des Bodens. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 7. 1936. S. 280.) — 31. Mai-

wald, K., Beschaffenheit des organischen Bodenanteils. (E. Blanck, Handb. d. Bodenlehre. Verlag J. Springer, Berlin. I. Erg.-Bd. 1939. S. 377.) — 32. Kriss, A. E., On the pigments of Actinomycetes. (Microbiology. Vol. 5. 1936. p. 607.) — 33. Geltzer, J. F., Die Rolle der organischen Stoffe bei der Bildung der Bodenstruktur. II. Mitt. (Chemisation d. soz. Landwirtschaft. Bd. 8. 1937. S. 53. — Ref. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 472.) — 34. Krassilnikow, N. A., Autolyse bei Actinomycetales. I. Kulturelles und morphologisches Bild der Autolyse. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 6. 1938. S. 708. — Ref. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 101. 1939/40. S. 471.) — 35. Nachimowskaja, M. J., Der Antagonismus zwischen den Bakterien. Der Antagonismus zwischen den einzelnen Gruppen der Bakterien. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 2. 1938. S. 238. — Ref. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 100. 1939. S. 245.) — 36. Rullmann, W., Weitere Mitteilungen über Cladothrix odorifera. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. 1896. S. 116.) Weitere Mitteilungen über Cladothrix dichotoma und odorifera. (Ibid. S. 701.) — 37. Schliephacke, K., Die Verbesserung humusarmer Böden durch kalkhaltige Rohbraunkohle. (Dtsch. landwirtsch. Presse. Bd. 63. 1936. S. 260.) — 38. Liese, M. H. und Bornemann, F., Verfahren zur Herstellung eines belebten organischen Düngemittels. (Dtsch. Reichspatent, Patentschrift. Nr. 536 461, Kl. 16, Gr. 14. B. I. 45 850. IV b/16. 1931.) — 39. Bornemann, F., Die Kohlenstoffernährung der Kulturpflanzen. Berlin (P. Parey) 1930. — 40. Sauerlandt, W., Untersuchungen über die Salpeterbildung und die Umsetzungen der Phosphorsäure unter dem Einfluß von Kalkdüngung und dem Kalkgehalt der Böden. (Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkunde. Bd. 45. 1936. S. 129.) — 41. Maiwald, K., Organische Bestandteile des Bodens. (E. Blanck, Handbuch d. Bodenlehre. Verlag J. Springer, Berlin. Bd. 7. 1931. S. 122.) — 42. Lundegardh, H., Der Kreislauf der Kohlensäure in der Natur. Jena (G. Fischer) 1924. — 43. Ruschmann, G., Die Zersetzung pflanzlicher und tierischer Rückstände im Boden, Stalldünger und Kompost. (Forschungsdienst. Bd. 2. 1936. S. 245.) — 44. Omelianski, W., Über die Gärung der Zellulose. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8. 1902. S. 226.) — Über die Trennung der Wasserstoff- und Methangärung der Zellulose. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. 1904. S. 369.) — 45. Beijerink, M. W., Über oligonitrophile Mikroben. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. S. 574.) — 46. Löhnis, F., Landwirtschaftlich-bakteriologisches Praktikum. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1920. — 47. Ruschmann, G. und Harder, L., Die Buttersäuregärung im Silofutter und der Nachweis ihrer Erreger. (Die Futterkonservierung. Bd. 3. 1931. S. 1.) — 48. Hwang, Y., Über die Möglichkeit der logarithmischen Darstellung der Mikroorganismenzahlen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 253.) — 49. Springer, U., Der heutige Stand der Humusuntersuchungsmethodik mit besonderer Berücksichtigung der Trennung, Bestimmung und Charakterisierung der Huminsäuretypen und ihre Anwendung auf charakteristische Humusformen. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 6. 1938. S. 312.) — 50. Gordon, M., Beitrag zur Frage der bei der Torfkompostierung auftretenden Humifizierungsvorgänge. Diss. Berlin 1936. — 51. Hock, A. und Kohl, F., Über die Humusverhältnisse deutscher Böden. (Forschungsdienst. Bd. 9. 1940. S. 141.) — 52. Hock, A., Beziehungen zwischen Konzentration und Farbwerten von Huminsäurelösungen. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 7. 1938. S. 99.) — 53. Simon, K. und Speichermann, H., Beiträge zur Humusuntersuchungsmethodik. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 8. 1938. S. 129.) — 54. Springer, U., Humifizierung und Zersetzung und ihre Bestimmung in Torfen, Stallmisten und anderen organischen Bildungen. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 18. 1940. S. 129.) — 55. Simon, K., Über die Herstellung von Humus-Extrakten mit neutralen Mitteln. (Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkunde. Bd. 14. 1929. S. 252.) — 56. Hock, A., Farbtiefen und Farbtonwerte als charakteristische Kennzeichen für Humusform und Humustyp in Böden nach neuen Verfahren. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 2. 1937. S. 304.) — 57. Simon, K., Färbungen und Oxydationswerte von Humus-Extrakten in gegenseitiger Beziehung. (Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkunde. Bd. 39. 1935. S. 1.) — 58. Odén, S., Die Huminsäuren. (Kolloidchem. Beihefte. Bd. 11. 1919. S. 75.) — 59. Simon, K., Die charakteristischen Humusstoffe, ihre Beurteilung und ihre Bedeutung im Stalldünger. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 1. 1936. S. 257.) — 60. Hock, A., Huminsäurebestimmung mittels Oxydimetrie. (Bodenkunde u. Pflanzenernähr. Bd. 13. 1939. S. 118.) — 61. Souci, S. W., Die Chemie des Moores. Stuttgart (F. Enke) 1938.

Die Empfindlichkeit einiger Phoma-Arten gegen Quecksilberverbindungen.

[Aus dem Botanischen Institut, Göteborg.]

Von E. Rennerfelt.

Bei Untersuchungen von Bläueschäden, die in mit organischen Quecksilberverbindungen behandeltem Holzschliff auftraten, habe ich außer Penicillium-Arten auch einige Phoma-Arten gefunden. Eine dieser Arten, Phoma lignicola, wird ziemlich oft in altem Holzschliff gefunden. In besonderen Versuchen habe ich gezeigt, daß dieser Pilz gegen Äthylquecksilberchlorid, den wirksamen Bestandteil in Lignasan und Pulpasan, resistenter ist als manche andere Bläuepilze (Rennerfelt 1941). Da diese Quecksilberverbindungen in den letzten Jahren als Imprägniermittel für Holzschliff gegen Pilzschäden eine recht große Anwendung gefunden hat, dürfte eine nähere Untersuchung über ihre Einwirkung auf Phoma-Arten aus Holzschliff von einem gewissen Interesse sein.

Als Versuchspilze wurden Phoma conidiogena Schnegg, Phoma lignicola Rennerfelt (zwei Stämme a und b) und eine bis jetzt nicht identifizierte Art, hier Phoma A genannt, benutzt. In diesem Zusammenhang möchte ich darauf hinweisen, daß diese drei Arten alle saprophytisch sind, Wirtspflanzen können für sie nicht angegeben werden.

Die Pilze wurden teils auf festem Nährboden (2% Malzextrakt und 1,5% Agar), teils in Nährlösungen (2% Saccharose, Salze gemäß Boas 1935 und 10 mg Hefeextrakt je Kolben) gezüchtet.

Die Versuche auf Agar wurden in Petrischalen ausgeführt, wobei jede Schale mit einer Million Sporen geimpft wurde. Die Versuche in Nährlösung wurden in 100 g Erlenmeyer-Kolben ausgeführt, in jeden Kolben wurde 25 ccm Nährlösung eingeführt, die nach Entkeimung mit 40 000 Sporen je Kolben geimpft wurde. Von den Petrischalen hatte ich zwei, von den Kolben vier Parallelen. Die Versuche wurden nach 10 Tagen bei 22° C beendet.

Mehrere äußere Faktoren können auf das Wachstum in einem vergifteten Substrat einwirken (McCallan und Wilcoxon 1939), u. a. die Sporendichte und das Alter der Sporen. Aus Tab. 1 geht deutlich hervor, daß das Alter eine wesentliche Einwirkung auf die Widerstandsfähigkeit hat. 1000 Sporen wurden in die Schalen ausgesät, und die Anzahl auswachsender Kolonien wurde gezählt. Die Keimzahlen beziehen sich auf die Relativzahlen. Die absolute Keimfähigkeit ist bei den jungen Sporen bedeutend größer als bei den alten, aber diese vertragen eine höhere Konzentration des Giftes

Tabelle 1.
Die Keimfähigkeit verschieden alter Sporen von Phoma lignicola in Pulpasan.

Alter	Kontrolle % gekeimte Sporen		% gekeimte Sporen in Pulpasan			
	absolut	relativ	0,001	0,0005	0,0002	0,0001
1 Woche	64,7	100	—	—	41,3	53,6
6 Monate	21,3	100	—	2,3	60,2	69,5

und haben auch eine größere Resistenz. Ich benutzte in den Versuchen Impfmaterial aus Kulturen, die 8—10 Tage alt waren.

Nach der Entkeimung wurde dem Agar bzw. den Nährlösungen teils Sublimat, teils Äthylquecksilberchlorid beigemischt. Für letzteres wurde das Erzeugnis von A. B. Ewos, Södertälje in Schweden, benutzt. Es ist unter dem Namen Pulpasan käuflich, enthält 6% wirksamen Bestandteil und zeichnet sich durch große Reinheit aus.

A. Versuche auf Agar.

In Tab. 2 sind die Versuche mit Sublimat zusammengestellt worden. Es geht daraus hervor, daß die Phoma-Arten eine recht verschiedene Resistenz gegen dieses Gift zeigen. 0,05% ist genügend, um die Sporen aller Arten zu hemmen. In 0,01% wachsen nicht Phoma conidiogena und Phoma A, während die beiden Stämme von Phoma lignicola dort zum großen Teil gekeimt haben. In 0,005% wird Phoma lignicola gar nicht gehemmt, während Phoma A erst in 0,001% und Phoma conidiogena sogar erst in 0,0005% wie in der Kontrolle wächst. Phoma lignicola war in diesem Versuch fünfmal resistenter als die zwei anderen Arten.

Tabelle 2.

Die Entwicklung von Phoma-Arten in Sublimat-haltigem Agar.

Pilze	Kontrolle	% Sublimat					
		0,05	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005
Phoma conidiogena	++[1]	—	—	(+)	(+)	+	++
Phoma lignicola a	++	—	+	++	++	++	++
Phoma lignicola b	++	—	+	++	++	++	++
Phoma A	++	—	—	+	+	++	++

[1]) ++ gute Sporenkeimung, 50—100% von der Kontrolle;
+ mäßige Sporenkeimung, 5—50% von der Kontrolle;
(+) geringe Sporenkeimung, $<$ 5% von der Kontrolle;
— keine Keimung, die Schalen steril.

Tabelle 3.

Die Entwicklung von Phoma-Arten in Äthylquecksilberchlorid-haltigem Agar.

Pilze	Kontrolle	% Pulpasan						
		0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002	0,0001
Phoma conidiogena	++	—	—	—	+	+	++	++
Phoma lignicola a	++	—	—	(+)	+	++	++	++
Phoma lignicola b	++	—	(+)	++	++	++	++	++
Phoma A	++	—	—	—	—	—	(+)	++

In Tab. 3 finden sich dieselben Versuche mit Pulpasan. Es ist ersichtlich, daß diese Verbindung wirksamer ist als Sublimat. 0,01% hat alle Pilze gehemmt. Phoma lignicola wird von 0,01 bzw. 0,005%, Phoma conidiogena von 0,002 und Phoma A von einer so niedrigen Konzentration wie 0,0005% gehemmt, und in 0,0002% wuchs der letztgenannte Pilz nur mit sterilem Myzel.

Tabelle 4.
Das Verhältnis zwischen Giftwirkung bei Sublimat und Äthylquecksilberchlorid im Agar.

Pilze	Sublimat		Pulpasan			Äthylquecksilberchlorid	
	hemmende Konz. %	mg je Schale	hemmende Konz. %	mg je Schale	Giftwirkung Sublimat = 1	mg je Schale	Giftwirkung Sublimat = 1
Phoma conidiogena	0,01	1,6	0,002	0,32	5	0,02	80
Phoma lignicola a	0,05	8,0	0,005	0,80	10	0,05	160
Phoma lignicola b	0,05	8,0	0,01	1,6	5	0,1	80
Phoma A	0,01	1,6	0,0005	0,08	20	0,005	320

Pulpasan ist also wirksamer als Sublimat. Pulpasan enthält aber nur 6% Äthylquecksilberchlorid, der größte Teil ist Soda und Natriumsulfat, die beide keine Giftwirkung haben. Wird die Giftwirkung statt dessen auf den Gehalt an Äthylquecksilberchlorid berechnet, so wird die Wirkung im Vergleich mit der von Sublimat noch viel größer. In Tab. 4 sind die so berechneten Werte verzeichnet. Im Verhältnis zu Sublimat ist Pulpasan etwa 5—20mal, Äthylquecksilberchlorid dagegen 80—320mal wirksamer. Von Sublimat ist 1,6 mg pro Schale erforderlich, um die Keimung einer Million Sporen von Phoma conidiogena zu verhindern, von Pulpasan genügt es mit 0,32 mg und von Äthylquecksilberchlorid ist eine so geringe Menge wie 0,02 mg genug. Die Keimung von Phoma A wird sogar von 0,005 mg gehemmt; je Spore ergibt dies $5 \cdot 10^{-9}$ mg.

B. Versuche in Nährlösung.

Die Phoma-Arten hatten ein recht gutes Wachstum in Flüssigkeit. Sie bildeten auf der Oberfläche eine feste Myzeldecke, die leicht herauszunehmen war. Nach 10 Tagen wurden die Versuche beendet, die Myzelien wurden herausgenommen, in destilliertem Wasser gewaschen und bei 102° C getrocknet. Als Maß des Wachstums wurde die Menge der Trockensubstanz gebraucht.

Tabelle 5.
Die Trockensubstanzproduktion (in Milligramm) von Phoma-Arten in Sublimathaltiger Nährlösung.

Pilze	Kontrolle	γ Sublimat je Kolben				
		1000	200	100	10	1
Phoma conidiogena	128,8 ± 4,8	—	—	—	—	132,1 ± 5,0
Phoma lignicola a.	100,6 ± 3,9	—	5,6 ± 1,1	71,2 ± 2,9	84,0 ± 4,1	105,1 ± 4,7
Phoma lignicola b .	104,5 ± 3,8	—	70,4 ± 4,6	94,1 ± 5,8	108,1 ± 5,0	103,9 ± 4,4
Phoma A	239,9 ± 6,2	—	—	—	—	182,6 ± 5,3

In Tab. 5 sind die Versuche in Sublimat zusammengestellt. Am auffälligsten ist die große Resistenz der beiden Phoma lignicola-Stämme verglichen mit den zwei anderen. Jene werden erst von 1000 γ gehemmt, während diese von einer so geringen Quantität wie 10 γ gehemmt werden. Phoma lignicola verträgt also 100mal mehr Sublimat als die zwei anderen Arten. Auch zwischen den beiden Stämmen von Phoma ligni-

cola besteht ein Unterschied. Stamm a kann in der Lösung mit 200 γ kaum wachsen, während Stamm b von dieser Quantität nur unbedeutend gehemmt wird. Bemerkenswert ist, daß der Unterschied zwischen den Phoma-Arten in Flüssigkeit so groß ist; in Agar vertrug Phoma lignicola nur fünfmal mehr Sublimat. Der Grund dürfte teils in der verschiedenen Impfmenge zu suchen sein — in Agar eine Million je Schale, in der Lösung 40 000 je Kolben —, teils darin, daß das Gift eine etwas andere Wirkung in Lösung als in Agar hat.

Tabelle 6.
Die Trockensubstanzproduktion (in Milligramm) von Phoma-Arten in Äthylquecksilberchlorid-haltiger Nährlösung.

Pilze	Kontrolle	γ Pulpasan je Kolben				
		100	20	10	1	0,1
Phoma conidiogena	151,6 ± 2,3	—	—	—	145,5 ± 4,1	148,7 ± 3,2
Phoma lignicola a .	117,8 ± 4,8	—	7,0 ± 1,2	84,7 ± 4,1	104,5 ± 2,4	121,0 ± 1,7
Phoma lignicola b .	99,1 ± 4,7	—	55,5 ± 3,6	88,9 ± 4,2	101,5 ± 3,4	102,3 ± 4,6
Phoma A	213,2 ± 6,3	—	—	3,7 ± 0,2	207,9 ± 3,1	223,9 ± 3,9

Derselbe Versuch wurde mit Pulpasan gemacht (Tab. 6). Auch hier ist Phoma lignicola bedeutend resistenter als die zwei anderen Arten, obgleich der Unterschied nicht gleich groß ist. Wie im Sublimat ist auch hier Stamm b von Phoma lignicola widerstandsfähiger als Stamm a. Phoma conidiogena ist sehr empfindlich, 10 γ ist genügend, um jegliches Wachstum zu verhindern. Phoma A wird von 20 γ gehemmt, und in den Kolben mit 10 γ wurden nur wenige Milligramm Trockensubstanz erhalten, während Phoma lignicola erst bei 100 γ unterliegt.

Tabelle 7.
Das Verhältnis zwischen Giftwirkung bei Sublimat und Äthylquecksilberchlorid in Nährlösung.

Pilze	Sublimat		Pulpasan			Äthylquecksilberchlorid		
	hemmende Konz. %	γ je Kolben	hemmende Konz. %	γ je Kolben	Giftwirkung Sublimat = 1	hemmende Konz. %	γ je Kolben	Giftwirkung Sublimat = 1
Phoma conidiogena	$4 \cdot 10^{-5}$	10	$4 \cdot 10^{-5}$	10	1	$2{,}5 \cdot 10^{-6}$	0,6	16
Phoma lignicola a	$4 \cdot 10^{-3}$	1000	$4 \cdot 10^{-4}$	100	10	$2{,}5 \cdot 10^{-5}$	6,0	160
Phoma lignicola b	$4 \cdot 10^{-3}$	1000	$4 \cdot 10^{-4}$	100	10	$2{,}5 \cdot 10^{-5}$	6,0	160
Phoma A	$4 \cdot 10^{-5}$	10	$8 \cdot 10^{-5}$	20	0,5	$5 \cdot 10^{-6}$	1,2	8

Um einen Vergleich mit Sublimat anstellen zu können, habe ich auch in diesem Fall eine Umrechnung auf Äthylquecksilberchlorid gemacht (Tab. 7). Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß Sublimat und Pulpasan ungefähr dieselbe Wirkung auf Phoma conidiogena und Phoma A haben, während Pulpasan auf Phoma lignicola viel wirksamer ist. Äthylquecksilberchlorid hat jedoch eine noch viel größere Wirkung. Für Phoma A ist es achtmal, für Phoma conidiogena 16mal und für Phoma lignicola 160mal giftiger als Sublimat. Um das Wachstum von Phoma

conidiogena zu verhindern, ist 0,6 γ hinreichend, was je Spore $1 \cdot 5 \cdot 10^{-8}$ mg bedeutet.

Wie aus einem Vergleich zwischen den letzten Spalten der Tab. 4 und 7 hervorgeht, zeigt der Faktor Sublimat : Äthylquecksilberchlorid in Agar bzw. in Lösung ganz verschiedene Werte für die untersuchten Pilze. Für Phoma lignicola ist er in beiden Fällen annähernd derselbe; Äthylquecksilberchlorid ist 80—160mal wirksamer. Betreffs Phoma conidiogena sind die Unterschiede jedoch größer. In Agar ist er 80mal, in Lösung 16mal empfindlicher gegen Äthylquecksilberchlorid. Noch ausgeprägter ist dieser Unterschied betreffs Phoma A: in Agar 320- in Lösung nur achtmal empfindlicher. Es ist nicht leicht, den Grund dieser Verschiedenheiten zu finden.

Wie aus diesen Versuchen hervorgeht, ist Pulpasan durchweg wirksamer als Sublimat, wenigstens wenn sein Gehalt an Äthylquecksilberchlorid berücksichtigt wird. Um die Keimung der Sporen zu verhindern, muß Sublimat in 8—320mal stärkerer Konzentration benutzt werden. Das Molekulargewicht ist für Mercurichlorid 271, für Äthylquecksilberchlorid 281. Lösungen von derselben prozentigen Zusammensetzung sind also hinsichtlich des Quecksilbers annähernd äquivalent. In organischer Bindung ist dem zufolge das Hg-Molekül sehr viel wirksamer. Vielleicht dringt es in organischer Bindung leichter durch das Protoplasma und vielleicht reagiert es auch leichter mit den lebenswichtigen Bestandteilen des Plasmas.

Ein anderer bemerkenswerter Umstand ist die große Verschiedenheit in der Widerstandsfähigkeit bei den drei Phoma-Arten. Phoma lignicola war durchweg der widerstandsfähigste Pilz, die zwei anderen wurden von wesentlich kleineren Giftmengen getötet. Phoma lignicola hat 5—10mal, in einem Fall (Tab. 5) sogar 100mal höhere Konzentrationen vertragen. In der bisherigen Literatur gibt es einige Angaben über ähnliche Verhältnisse. Rippel (1932) untersuchte die Keimung zweier Cladosporium-Arten, Cl. fulvum und Cl. herbarum, in verschiedenen Giftlösungen. Cl. fulvum war stets resistenter gegen manche Gifte, so vertrugen seine Sporen von Sublimat 2,5 und von Kupfersulfat 40mal höhere Konzentration als diejenigen von Cl. herbarum. Gemäß Rippel beruht die größere Widerstandsfähigkeit bei Cl. fulvum auf der dicken Membran der Sporen, die das Durchdringen der Gifte erschwert. Richards (1925) prüfte das Wachstum vieler Fäulnispilze auf Malzagar mit Zusatz von Zinkchlorid. Die Gattungen Fomes, Lenzites, Polystictus und Trametes waren durch zwei oder drei Arten vertreten. Die Verschiedenheiten der Resistenz waren nicht besonders groß, am größten zwischen Polystictus hirsutus und P. versicolor, jener war dreimal empfindlicher als dieser. Aus den Tabellen in der umfangreichen Arbeit von Borzini (1938) kann entnommen werden, daß zwischen zwei untersuchten Fusarium-Arten große Verschiedenheiten bestehen. Um das Wachstum von F. solani zu verhindern, muß die Konzentration von Natriumfluorid und Natriumkieselfluorid 20mal höher sein als bei F. sambucimum. Dieser verträgt dagegen von Borsäure und Borax zehnmal mehr als jener. Gegenüber Kupfersulfat verhalten sich die beiden Pilze gleich. Zwei untersuchte Arten der Gattung Burgoa waren ungefähr gleich empfindlich gegen die benutzten Gifte. Von zwei Polyporus-Arten, die ich in bezug auf acht verschiedene Pilzgifte untersucht habe (Rennerfelt 1941), war P. hirsutus gegen Pentachlorphenol und

Borax zehnmal resistenter als P. vaporarius. In Versuchen mit Äthylquecksilberchlorid konnte jedoch kein Unterschied wahrgenommen werden.

Die Erklärung dieser verschiedenen Widerstandsfähigkeit gegen ein Antiseptikum dürfte wohl größtenteils in dem feineren Bau und der verschiedenen Empfindlichkeit des Protoplasmas zu suchen sein. Bei den Phoma - Arten glaube ich nicht, daß nur Verschiedenheiten in der Membrandicke so große Variationen in der Resistenz, wie sie tatsächlich vorhanden sind, bedingen können. Die Sporen sind klein, hyalin, und besondere Membranverdickungen habe ich bei mikroskopischer Untersuchung nicht beobachten können. Auch die Sporengröße kann nicht ausschlaggebend sein. Wie aus Tab. 8 hervorgeht, hat Phoma conidiogena die größten, Phoma A die kleinsten Sporen. Die Sporen der letztgenannten Art unterscheiden sich von den länglich-ovalen der anderen Arten dadurch, daß sie fast kugelrund sind. Die Sporen von Phoma conidiogena und Phoma lignicola enthalten gewöhnlicherweise 2 Öltröpfchen. Mitunter fehlen sie, mitunter können 3 Tröpfchen vorhanden sein. Bei Phoma A habe ich keine solche Bildungen wahrnehmen können, dagegen ist der ganze Zellinhalt stark lichtbrechend.

Tabelle 8.
Die Sporengröße bei den Phoma - Arten.

Pilze	Sporengröße μ	Mittel von 20 Messungen μ
Phoma conidiogena. .	1,8–3,6 × 5,0–8,4	2,5 × 6,2
Phoma lignicola a . .	1,4–2,4 × 3,6–5,4	1,8 × 4,7
Phoma lignicola b . .	1,4–2,4 × 4,8–6,0	2,0 × 5,5
Phoma A	2,2 × 2,6	2,4

Die verschiedene Resistenz gegen die Quecksilberverbindungen können nicht mit Hilfe dieser Daten erklärt werden. Wie eben gesagt, beruht die verschiedene Widerstandsfähigkeit sicher auf Unterschieden in dem inneren Bau des Protoplasmas. Wie dem auch sei, kann ich gern Bavendamm (1939) beistimmen, wenn er sagt, daß die Prüfung auf Widerstandsfähigkeit gegen Gifte ein gutes Hilfsmittel ist, um einzelne Pilzkulturen auseinanderzuhalten und zu erkennen.

Zusammenfassung.

Drei Phoma - Arten, aus feuchtem Holzschliff isoliert, sind auf Malzagar und in Saccharose-haltigen Lösungen mit verschiedenen Konzentrationen von Quecksilberverbindungen gezüchtet worden.

In organischer Bindung — als Äthylquecksilberchlorid —, war das Quecksilber viel wirksamer als in anorganischer Bindung (Sublimat). In Flüssigkeit war von Äthylquecksilberchlorid 0,6—6,0 γ je Kolben genügend, von Sublimat dagegen 10—1000 γ je Kolben erforderlich, um das Wachstum zu verhindern.

Bemerkenswerte Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit wurden konstatiert. Phoma lignicola war am resistentesten, er war 5—10mal, in einem Fall sogar 100mal resistenter als die 2 anderen Arten. Worauf

dies beruht, konnte zwar nicht näher erklärt werden, der Grund dürfte aber nicht in äußeren Merkmalen, wie Sporengröße u. dgl. zu suchen sein.

Literatur.

Bavendamm, W., Handbuch der Biol. Arbeitsmethoden. Abt. XII. Bd. 2. 1939. S. 927. — Boas, F., Ber. d. dtsch. Bot. Ges. Bd. 53. 1935. S. 495. — Goidánich, G., Borzini, G., Mezetti, A. und Vivani, W., Ricerche sulle alterazione e sulla conservazione della pasta di legno destinata alla fabbricazione della carta. Rom 1938. — McCallan, S. E. A., and Wilcoxon, F., Contr. Boyce Thompson Inst. Vol. 11. 1939. p. 5. — Rennerfelt, E., Svenska Skogsvardsföreningens Tidskrift. Bd. 39. 1941. S. 19. — Richards, C. A., Proc. Ann. Meet. Amer. Wood. Pres. Ass. 1924. — Rippel, K., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 543.

Referate.

Allgemeines und Methodisches.

Kramer, S., Verwendung eines neuen Gerätes zur Desinfektionsmittel-Prüfung. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 125. 1940. S. 132—147.)

Das Gerät (beziehbar von der Fa. Osw. Dietrich, Gotha, Schöne Allee 15, zum Preis von 0.40 RM einschließlich Reagenzglas) besteht aus einer Glasöse, die mit ihrem Stiel an einer Glaskappe sitzt. Diese dient als Verschluß für ein normales Reagenzglas. Zum Versuch werden die sterilen Glasösen mit 2proz. Agar durch kurzes Eintauchen bei etwa 60° präpariert (Agarbereitung: 2 g Na_2HPO_4, 2 g NaCl, 10 g Pepton, 10 g Cenovis-Vitamin-Extrakt, 1000 g Leitungswasser; nach 1 Std. Kochen Zusatz von 2% Agar, p_H mittels 10proz. Sodalösung auf 7,4 einstellen). Der Nährboden haftet so gut an dem Ring, daß ihn selbst ein tagelanges Hängen in verschiedenen Lösungen und Spülflüssigkeiten nicht zum Abfallen bringt. Er wird mit Testbakterien-Reinkultur beimpft. Nach einer bestimmten Bebrütungszeit werden die Ösen direkt in Reagenzgläser mit den zu prüfenden Desinfektionslösungen bestimmter Konzentration gehängt und nach gewünschten Zeiten in andere Reagenzgläschen mit Spülflüssigkeit zur Beseitigung von Desinfektionsmittelresten gebracht. Anschließend wird Material von den behandelten Kulturen auf Nährmedien zur Wirkungsprüfung überimpft oder die ganze Glasöse wird in eine Nährflüssigkeit gehängt.

Die besonderen Vorzüge der Methode sind, daß die Einwirkung der Desinfektionsmittel auf Bakterienhaufen (wachsende Kulturen) erfolgt und nachträglich wachstumshemmende Desinfektionsmittelreste mit Sicherheit ausgeschaltet werden können.

Bei der nach diesem Verfahren vorgenommenen vergleichenden Prüfung von Formamint, Lysol, Zephirol, Sagrotan und Quartamon schnitt Zephirol unter allen Bedingungen (auch bei Zusatz von Eiweißstoffen, Erde usw.) am besten ab. Zur sicheren Abtötung von Keimen mittlerer Resistenz innerhalb von 10 Min. genügte eine 2proz. Lösung. Formamint erwies sich als völlig unzureichend.

Abschließend werden die bisher gebräuchlichen Verfahren zur Prüfung von Desinfektionsmitteln einer kritischen Besprechung unterzogen.

Rodenkirchen (Dresden).

Neufeld, F., Über Zephirol als Händedesinfiziens und über Fehlerquellen bei Untersuchungen über Händedesinfektion. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 87. 1940. S. 1360—1362.)

Im Zusammenhang mit der Frage der Händedesinfektion wird auch auf den als Selbstreinigung der Haut bezeichneten Vorgang des spontanen Absterbens fremder auf die Haut gebrachter Bakterien eingegangen. Der Säuremantel der Haut ist dabei — entgegen den jetzt bisweilen vertretenen Vorstellungen — weder die wichtigste noch gar die einzige Ursache. Das ist schon daraus zu ersehen, daß die wenigen Erreger, die die Haut zu durchdringen vermögen (die Rekurrensspirochäten und die Leptospiren des Feldfiebers), keine besonders hohe Säureresistenz besitzen. Die Selbstreinigung beruht vielmehr auf höchst elektiven Abwehrkräften, die nicht chemischer Natur sind. *Rodenkirchen (Dresden).*

Bogdanow, W. M. und **Efimenko, A. I.**, Ein Nährsubstrat zur Isolierung der aromabildenden Bakterien. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 730—732.) [Russisch.]

Verff. empfehlen folgendes Nährsubstrat zur Isolierung der aromabildenden Bakterien: Wasser 1000 ccm, Na-Zitrat 10 g, Saccharose 10 g, Hefenautolysat 50 ccm, Agar 15 g, $p_H = 6{,}0—6{,}5$. Das Substrat wird bei 120° 15 Min. lang sterilisiert. Bei der Aussaat auf das Substrat bilden die die Saccharose vergärenden sowie die nichtvergärenden aromabildenden Bakterien deutlich zu unterscheidende Kolonien. *M. Gordienko (Berlin).*

Rippel, A., Die Schreibweise von Bacillus megaterium de Bary. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 470.)

Vielfach wird Bacillus megatherium geschrieben, da man die Schreibweise de Barys für ein Versehen hält. Nach persönlicher Erinnerung einiger Herren hat jedoch de Bary bewußt megaterium geschrieben, indem er mega und bacterium zusammenzog, also nicht von Megatherium ableitete. Die ursprüngliche Schreibweise ohne h ist also richtig. *Rippel (Göttingen).*

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Imschenetzki, A. A., Mikrobiologie anaerober Zellulosezersetzung. IV. Zellulosevergärung durch thermophile Bakterien. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 3. 1940. S. 233—244.) [Russisch.]

Bei anaerober Zellulosezersetzung durch thermophile Bakterien werden zwei Phasen deutlich unterschieden: In der ersten Phase geschieht rasche Hydrolyse der Zellulose, in der zweiten wird der bei der Hydrolyse entstandene Zucker vergoren. Unter für die Bakterienentwicklung optimalen Bedingungen wird nur ein Teil der Zucker vergoren. Reine Kulturen thermophiler Zellulosebakterien fermentieren Glukose unter Bildung von gleichen Produkten wie bei der Zellulosegärung. Bei Vergärung von Zellulose durch reine Kulturen bilden sich, neben Zucker, Alkohol, Essig-, Butter-, Ameisen- und Milchsäure sowie Kohlensäure und Wasserstoff; bei gemischten Kulturen von Zellulosebakterien stellt sich die Alkohol- nnd Säureausbeute höher als bei reinen. *M. Gordienko (Berlin).*

Imschenetzki, A. A., Mikrobiologie anaerober Zellulosezersetzung. V. Veränderlichkeit bei thermophilen Zellulosebakterien. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 5. S. 433—443. 1940.) [Russisch.]

Thermophile Zellulosebakterien besitzen die Fähigkeit, sich auf festen zellulosefreien Nährsubstraten unter anaeroben Bedingungen zu entwickeln. Dabei zeigen sie jedoch nur schwache Entwicklung, die sich auch nach einer Reihe von Passagen auf diesen Substraten nicht verstärkt. Morphologische Veränderungen der Bakterien in verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung zeigen auf festen Substraten nur geringe Abweichungen von den Veränderungen auf flüssigen zellulosehaltigen Substraten. Abnormitäten in der Struktur der Bakterien, wie Bildung von gigantischen Formen, Fäden usw., weisen jedoch auf geringe Eignung von festen Substraten für diese hin. Unter Laboratoriumsbedingungen haben Zellulosebakterien ihre zellulosevergärende Fähigkeit im Laufe längerer Zeit nicht verloren. Auch nach mehreren Passagen auf glukosehaltigen Substraten behielten sie die Fähigkeit, Cellulose energisch zu vergären. Somit erscheint dieses Merkmal bei Zellulosebakterien als beständig. *M. Gordienko (Berlin).*

Rotmistrow, M. N., Veränderlichkeit anaerober Zellulosebakterien. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 4. 1940. S. 331—342.) [Russisch.]

Aus einer Kultur wurden mittels Mikromanipulators zwei Zellen isoliert. Kolonien auf festen Nährsubstraten unter anaeroben Bedingungen zeigen unter p_H-Einfluß große Veränderungen; auf festen und flüssigen Substraten kommt bei anaeroben Zellulosebakterien Polymorphismus vor. Ältere Kulturen auf festen Substraten bilden Fäden von verschiedener Länge, ebenso kommen Fadenbildungen bei Überführung der Kulturen von festen auf flüssige Substrate vor; auf Substraten mit Hydratzellulose wurden gegabelte Myzelformen beobachtet. Die Vermehrung anaerober Zellulosebakterien geschieht durch Teilung der Zellen bzw. auch durch Knospenbildung. Für Zellulosebakterien sind zwei Zelltypen charakteristisch: 1. dickere (0,5—0,8 μ) mit ellipsoidalen Sporen und 2. dünnere (0,3—0,4 μ) mit kugelförmigen bzw. ovalen Sporen. Die ersteren (1. „aerober Typ“) bilden sich in Exsikkatoren mit Kohlensäure auf festen Substraten, auf Kartoffel-Agar nach Durchstechen, während die zweiten (2. „anaerober Typ“) sich auf flüssigen Substraten auf gärender Hydratzellulose, auf gärender Zellulose, Arabinose, Glukose, Maltose, Saccharose und anderen Kohlenhydraten bilden. Anaerobe Zellulosebakterien zeigen Veränderungen physiologischer Eigenschaften. Es besteht kein Unterschied zwischen den thermophilen und mesophilen Zellulosebakterien. Einige Stämme thermophiler Bakterien vergärten Zellulose bei 45 und 37° unter Bildung von gewöhnlichen Produkten, jedoch dauerte die Gärung längere Zeit; ebenso vergärten Zellulose die nach der Methode von Omeliansky isolierten mesophilen Zellulosebakterien bei 50 und 62°. *M. Gordienko (Berlin).*

Jakowlew, D. A., Der Bakteriophag von Milchsäurestreptokokken. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 8. 1939. S. 932—942.) [Russisch.]

Der von einem Stamm Str. cremoris isolierte Bakteriophag erwies sich als sehr thermoresistent (in der Milch bis Temperaturen von 80—90° und in getrocknetem Zustand bis 95° im Laufe von 2 Std.), auch erwies er

sich als säureresistent. Bei der Lysis der Milchsäurestreptokokken durch einen schwach virulenten Bakteriophag und bei geringer Phagkonzentration wurde Lysis von einer Quellung der Zellen begleitet, was im Gegensatz zur Ansicht d'Herelles steht, daß die Quellung nur bei der Gruppe Gramnegativer Bakterien stattfindet; auch bestätigte sich nicht die Ansicht von Whitehaed, Cox und Hunter über die stimulierende Wirkung der Aeration und Metalle auf das spontane Erscheinen von Bakteriophagen bei der Milchpasteurisierung. Dagegen hat sich erwiesen, daß die Lysis durch Rühren bzw. Aufschütteln der Milch bei diesem Prozeß stimuliert wird; die Lysis verläuft dadurch schneller und gleichmäßiger und das Wachstum sekundärer Kulturen wird nicht gehemmt. Bei der Lysis findet in der Milch eine starke Veränderung des Oxydations-Reduktions-Potentials statt. Bei der Säuerung mit kombinierten Säureweckern, welche die gegen den Phag empfindlichen Stämme enthalten, tritt in Gegenwart desselben eine Verzögerung ein, bzw. kommen Fehler vor, die durch den Ausfall der Tätigkeit des Milchsäuremikroben und durch die Entwicklung anderer Mikroben bedingt werden. Zur Herstellung brauchbarer Milchsäurekulturen müssen also die gegen den Bakteriophag resistenten Kulturen ausgelesen werden.

M. Gordienko (Berlin).

v. Plotho, O., Die chromatische Substanz bei Aktinomyzeten. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 285—311.)

Bei einer Reihe von Aktinomyzeten-Stämmen (aus Erde, ferner dem Alnus- und dem Myrica-Symbionten) wurde diffuse Nuklealreaktion nach der Feulgen-Methode gefunden. In älteren Zellen und den Sporen treten dagegen scheinbar distinkte Körner auf, die aber lediglich durch Plasmaverdichtungen bei gleichzeitiger (wenigstens bei den Sporen) Membranverdickung zustande kommen. Es wurde weiterhin der Nachweis erbracht, daß diese Verhältnisse unter extremen Kulturbedingungen (Zusatz ätherischer Öle, Magnesiumsulfat und Lithiumchlorid) konstant blieben; auch verschiedene Fixierungsmittel, niedere oder höhere Hydrolyse-Temperatur, Variation der Hydrolysedauer vermochten das Ergebnis nicht zu ändern. Verschiedene spezifische Kernfarbstoffe führten ebenfalls zu gleichen Bildern. Durch kritische Erörterung kommt Verf.n zu dem Schluß, daß die Aktinomyzeten Thymonukleinsäure enthalten. Plasmalogen, Fett und Volutin kommt für den positiven Ausfall der Reaktion nicht in Frage.

Die Sporen sind gegen feuchtes Erhitzen und gegen Austrocknen resistenter als die unversporten Zellen. *Rippel (Göttingen).*

Schopfer, W. H., Recherches sur les facteurs de croissance fongiques dits spécifiques. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 264—270.)

Für Phycomyces Blakesleeanus ist in einer nichtgepufferten Nährlösung Ammoniumsulfat eine schlechte Stickstoffquelle. Das Gemisch von Nielsen, das den künstlichen Wuchsstoff enthalten soll, wirkt lediglich durch den assimilierbaren Stickstoff des Ammoniumtartrates. Der synthetische Faktor B 2 besteht also nicht.

Die zur Zeit bekannten Wuchsstoffwirkungen von Vitaminnatur für diesen Pilz werden besprochen. *Rippel (Göttingen).*

Abgeschlossen am 18. Juli 1941.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 4/7.
Ausgegeben am 25. September 1941.

Der Göttinger Erbsennematode (Heterodera göttingiana), ein Rückblick auf eine 50jährige Entwicklung.

[Aus der Dienststelle für Nematodenforschung, Zweigstelle Kiel-Kitzeberg der Biologischen Reichsanstalt.]

Von **H. Goffart.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

Im Jahre 1890 berichtete Liebscher über eine an Erbsen lebende Heterodera-Art auf dem Versuchsfeld des Landwirtschaftlichen Instituts der Universität Göttingen, die er Heterodera göttingiana nannte. Der Nematode trat hier in einem Düngungsversuch auf, dessen Parzellen in 13 Jahren 10mal Erbsen und 3mal Bohnen getragen hatten. In den beiden letzten Jahren waren die Erträge auffallend zurückgegangen. Die Pflanzen zeigten schon frühzeitig eine ungesunde gelbliche Blattfärbung sowie Kümmerwuchs und waren auf den nicht mit Stickstoff gedüngten Parzellen bereits Ende Juni zum großen Teil abgestorben. Die Wurzeln waren zart und weich und besaßen außerdem nur ganz vereinzelt Knöllchenbakterien, eine natürliche Folge des starken Schwächezustandes der Pflanzen.

Liebscher hat auf diesen ersten Fall einer durch Nematoden verursachten „Erbsenmüdigkeit" besonders hingewiesen, da zur damaligen Zeit vielfach eine möglichst häufige Wiederkehr der Leguminosen als stickstoffsammelnde Zwischenfrüchte propagiert wurde. Glücklicherweise hat in der Folgezeit dieser Nematode für Deutschland keine praktische Bedeutung erlangt. Er trat nach Angabe Hollrungs nur noch auf dem Hallenser Nematodenversuchsfeld auf, und zwar an Erbse, Platterbse, Bohne (Phaseolus vulgaris), Linse, Inkarnatklee und Luzerne. Außerhalb Deutschlands sind noch einige Fundstellen aus Frankreich (Capus), Belgien, Dänemark und verschiedenen Teilen Englands (Edwards, Triffitt u. a.) sowie aus der UdSSR. und Japan bekannt geworden.

Durch die freundliche Unterstützung des jetzigen Leiters des Instituts für Pflanzenbau in Göttingen, Herrn Prof. Dr. Tornau, dem ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche, war es mir möglich, von der Versuchsfläche, auf der Liebscher seine Beobachtungen angestellt hatte, Erdproben zu erhalten und auch über die weitere Bebauung des Feldes Näheres zu erfahren. Nach 1892 wurden die verseuchten Parzellen in einen einheitlichen Fruchtfolgeumlauf genommen, der folgende Pflanzen umfaßte: Erbsen, Roggen, Ackerbohne, Futterrübe, Sommergerste, Vietsbohne, Kartoffel, Sommerweizen. Trotz der sehr verschiedenen Kulturen traten 1932 wiederum derart beträchtliche Schädigungen an Erbsen

auf, daß eine Änderung in der Fruchtfolge vorgenommen werden mußte. Seit 1934 wird daher an Stelle von Erbsen Raps gebaut.

Da es wohl kaum einen Nematodenherd geben wird, der ein halbes Jahrhundert unter ständiger wissenschaftlicher Kontrolle stand, schien es angebracht zu sein, den Nematoden 50 Jahre nach seiner Entdeckung einer erneuten Prüfung zu unterziehen, um festzustellen, ob und wieweit in diesem Zeitraum durch die Umstellung der Fruchtfolge eine Veränderung in morphologischer und ökologischer Beziehung eingetreten ist. Über den speziellen Rahmen der Untersuchung hinaus soll damit zugleich ein Beitrag zur Rassenfrage der Gattung Heterodera geliefert werden, der das Zeitmoment, wenn auch genetisch gesehen nur in einem ganz kleinen Ausschnitt, berücksichtigt. An diesen Faktor sind ja diejenigen Kräfte gebunden, welche die Variabilität einer Art bestimmen, aus der heraus sich neue Rassen oder Arten entwickeln.

Zunächst soll die Morphologie des Erbsennematoden einer kurzen vergleichenden Betrachtung unterzogen werden.



Abb. 1. Wurzelstücke von Erbsenpflanzen mit weiblichen Tieren von Heterodera göttingiana.

Die den Wurzeln anhaftenden weiblichen Tiere (Abb. 1) gleichen in der Form dem Rübennematoden (Heterodera schachtii). Sie haben eine hervortretende Vulva, sind jedoch kleiner als dieser. Oft können sie sogar ohne Lupe als solche nicht erkannt werden. Reste der Larvenhaut wurden, im Gegensatz zu Liebschers Beobachtungen, mehrfach besonders an jüngeren Individuen nachgewiesen. Die Größe von 100 aus dem Boden ausgeschlämmter Cysten (Abb. 2), die dunkler sind als diejenigen des Rüben- und Hafernematoden, lag zwischen 487 und 922 μ mit einem Mittelwert von 682,7 μ; die Breite schwankte von 365—678 μ bei einem Durchschnitt von 490,9 μ, so daß sich ein Längen-Breiten-Index von 1,39 ergab. Die Angaben Liebschers stimmen hiermit gut überein (mittlere Länge 651 μ, mittlere Breite 466 μ, Längen-Breiten-Index 1,39). Die Größe der Eier wurde in der Länge mit 110 μ, in der Breite mit 44 μ gemessen, während Liebscher, vielleicht durch Verwenden einer falschen Meßzahl, hier ein Versehen unterlaufen sein muß, da er die Werte 245 bzw. 108 μ angibt. Die richtiggestellten Maße



Abb. 2. Aus dem Boden ausgeschlämmte Cysten von Heterodera göttingiana.

entsprechen etwa der Eigröße des Rübennematoden. Dieselbe Übereinstimmung zeigen auch Larvenmessungen, deren Größe bei 200 Tieren zwischen 374 und 533,5 μ, Mittelwert 456,2 μ, lag (Abb. 3). Die Ei- und Larvenstadien des Hafernematoden sind demnach etwas größer. Männliche Tiere traten bei unseren Untersuchungen nur vereinzelt in Erscheinung, doch lagen die gefundenen Werte innerhalb der von Liebscher gemachten Angaben (1150—1340 μ). Da sonstige strukturelle Abweichungen nicht festgestellt wurden, sind die Merkmale, die den Erbsennematoden vom Rübennematoden in morphologischer Hinsicht unterscheiden, recht klein und angesichts der starken Variabilität der einzelnen Entwicklungsstadien für die Aufstellung einer besonderen Art nicht ausreichend.

Scharfe Unterschiede bestehen jedoch in ökologischer bzw. physiologischer Beziehung zwischen beiden Formen. Nach Liebscher werden außer verschiedenen Varietäten von Pisum sativum mehrere Vicia-Arten, ferner Ervum lens, Lathyrus cicera, Cicer arietinum sowie in geringerem Maße Lupinus luteus, L. albus, L. cruik-

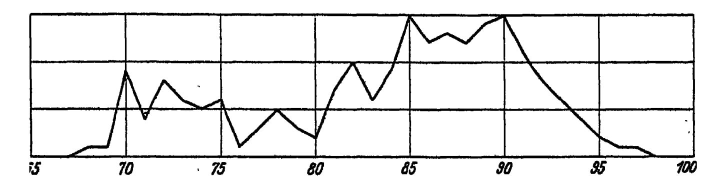


Abb. 3. Körperlänge der jüngsten Larven von Heterodera göttingiana. Zugrundegelegt sind 200 Messungen (τ = 5,5 μ).

shanskii und Soja hispida befallen, während Hafer, Gerste, Weizen, Zuckerrübe, Steckrübe und Kohl frei blieben. Ebensowenig wurden Klee und Schnittbohne (Phaseolus vulgaris, Ph. coccineus) angegriffen.

In den Jahren 1936—1939 prüften wir in teilweise mehrjährigen Versuchen eine ganze Anzahl verschiedener Kulturpflanzen und Unkräuter auf ihr Verhalten gegenüber dem Göttinger Erbsennematoden. Dabei stellten wir außer an Pisum sativum [1]) noch einen Befall an folgenden Vicia-Arten fest: V. amphicarpa, V. canadensis, V. disperma, V. leucospermum, V. serotina, V. Ramonica, V. sativa [1]), V. villosa [1]) und V. faba [1]). Ferner wurden noch Cysten an Lathyrus sativus [1]) und vereinzelt an Soja hispida [1]) nachgewiesen. Nicht befallen wurden Zuckerrübe, Hafer, Kartoffel, Rotklee, Weißklee sowie auffallenderweise Linse [1]), Lupine [1]), Vicia cracca und V. hirsuta [1]). Verschiedene Ackerunkräuter, wie Nachtschatten, Knöterich, Ackersenf und Hirtentäschel sowie Wiesenrispe, blieben ebenfalls nematodenfrei. Aus dem jetzigen Verhalten des Erbsennematodenstammes können wir somit entnehmen, daß er seinen Nährpflanzenbestand nach Einführung des Fruchtwechsels innerhalb der letzten 50 Jahre keinesfalls erweitert, sondern eher vermindert hat. Sein Auftreten beschränkt sich nach wie vor auf die Leguminosen.

Die Erkrankung der befallenen Erbsen machte sich in der von Lieb-

[1]) Diese Pflanze wird von Liebscher als Wirtspflanze aufgeführt.

scher geschilderten Form (s. oben) bemerkbar, nachdem die Pflanzen eine Größe von 10—15 cm erreicht hatten. Soweit sich überhaupt Schoten ausbildeten, waren sie klein und an der Basis gekrümmt. Vielfach trafen wir im weiteren Verlauf der Krankheit an den weich gewordenen, braungefärbten und stark verzweigten Wurzeln (Abb. 4) noch eine Fusariose an, die erstmals von Capus in Frankreich beobachtet und deren Erreger als Fusarium vasinfectum var. pisi bezeichnet wurde. Nach englischen Beobachtungen (Triffitt) war an nematodenbefallenen Erbsenpflanzen regel-



Abb. 4. Von Heterodera göttingiana befallene Erbsenwurzeln.

mäßig Fusarium martii var. pisi anwesend, der die unteren Teile des Stengels teilweise oder ganz mit einem Ring schwärzlich verfärbten Gewebes umgab.

Einen weiteren Beitrag zur Frage des Verhaltens bestimmter Pflanzen gegenüber dem Nematoden liefert das Ergebnis zweier Schlüpfversuche, die mit je 60 vollen Cysten im Frühjahr 1939 angesetzt wurden. Die in Gläschen bei 25 $\pm$ 1° C im Thermostaten gehaltenen Cysten wurden teils mit Wurzelsekreten einiger „Standard“-Pflanzen in Form ihres „Ablaufwassers“ gereizt, teils durch Zusatz von Aqua destillata als Kontrolle angesetzt. Nach 2 Tagen entfernten wir den jeweiligen Reizstoff wieder und stellten die Zahl

der je Gläschen geschlüpften Larven fest. (Im einzelnen ist die Technik in einer früheren Veröffentlichung [4] behandelt worden.)

Tabelle 1
(Versuchsdauer 31. März bis 14. April 1939).
Zahl der geschlüpften Larven nach Zusatz von:

Aq. destillata	4	Aq. destillata	48
Hafer	88	Aq. destillata	147
Zuckerrübe	87	Aq. destillata	96
Kartoffel	20	Aq. destillata	84
Erbse	8	Aq. destillata	15
Aq. destillata	47	Erbse	8
Aq. destillata	21	Aq. destillata	4
	275		404

Wir entnehmen der Tabelle, daß in den ersten Tagen nach Ansetzen des Versuchs verhältnismäßig viel Larven erscheinen und ihre Zahl dann allmählich abnimmt. Hier liegt eine Auswirkung des thermischen Reizes vor, der beim Einbringen der Cysten in den Thermostaten mit 25° C entsteht. Wichtiger jedoch ist die Feststellung, daß sich kein unmittelbarer Einfluß der Wurzelsekrete geltend macht, selbst nicht nach Zusatz von „Erbsenablaufwasser", obwohl die Versuche in eine Zeit fallen, die für die Einwanderung von Larven aus dem Boden in junge Erbsenpflanzen günstig ist. Für die Aktivierung, d. h. für die Auslösung des Schlüpfvorganges, ist also die Anwesenheit einer Wirtspflanze nicht erforderlich. Dagegen hängt die Angriffsfreudigkeit des Nematoden von der Jahreszeit ab. An Pflanzen, die im April ausgesät waren, traten im Juni Larven des dritten Stadiums, im Juli Cysten in größerer Anzahl auf. Im Juli ausgesäte Pflanzen hatten im September nur einen sehr schwachen Cystenbesatz aufzuweisen. Eine noch später im Jahre vorgenommene Aussaat von Erbsen blieb befallsfrei. Demzufolge scheint die Aktivierung des Nematoden in den Monaten April bis Juni am stärksten zu sein. Sie klingt dann ab, um erst zu Beginn des folgenden Frühjahrs wieder anzusteigen. Dieses Verhalten erinnert an den Hafernematoden. Auch hier werden durch die Wurzelsekrete der Haferpflanze keine Larven zum Ausschlüpfen gereizt. Ebenso ist seine Aktivierbarkeit von der Jahreszeit abhängig. Da auf dem Göttinger Versuchsfeld nach Beobachtungen Liebschers auch Nematoden an Hafer gefunden worden sind, liegt die Vermutung nahe, daß hier noch verwandtschaftliche Beziehungen zwischen dem Hafer- und Erbsennematoden nachklingen. Möglicherweise hat sich der letztgenannte durch Mutation aus dem Hafernematoden oder aus einer beiden gemeinsamen ursprünglicheren Form entwickelt. Es würde sich damit eine Parallele ergeben zu dem Auftreten von Nematoden an Klee, die z. B. in Schleswig-Holstein auf Böden nachgewiesen werden konnten, die gleichzeitig mit Hafernematoden verseucht waren. Ob die Kleeälchen und der Göttinger Erbsennematode ein und derselben Art angehören, muß noch näher untersucht werden.

Es ergibt sich also, daß der Göttinger Erbsennematode zwar gewisse morphologische und biologische Eigenschaften mit dem Rüben- und Hafernematoden gemeinsam hat, daß er aber doch als ein spezifischer Leguminosennematode anzusprechen ist, der seinen Nährpflanzenkreis bis heute beibehalten hat. Aus dieser Erkenntnis heraus scheint mir der schon von Liebscher gezogene Schluß, den Nematoden als eine besondere Art anzusehen,

berechtigt, zumal ich auf Grund anderer Überlegungen glaube, daß man beim tieferen Eindringen in das Rassenproblem mit der Bezeichnung „biologische Rasse (Varietät) von Heterodera schachtii" in Verlegenheit kommen wird.

Die Verbreitung des Nematoden ist, wie schon einleitend mitgeteilt, nicht so umfangreich, daß er wirtschaftlich eine größere Bedeutung hat. Von den aus dem Schrifttum bekannt gewordenen und näher untersuchten Fällen besitzen die englischen Stämme, die Triffitt u. a. untersucht haben, hinsichtlich ihres Nährpflanzenkreises die größte Ähnlichkeit mit dem Göttinger Stamm. Eine besonders hohe Spezialisierung scheinen die in Japan von Kuwayama sowie von Fujita und Miura beobachteten Stämme zu haben, die hauptsächlich Soja- und Phaseolus-Bohnen, jedoch keine Erbsen angreifen. Eine derart hohe „Anpassung" macht einen Nematodenstamm für Verhältnisse, wie sie im Augenblick auf einem Acker herrschen, zwar geeigneter als Stämme mit einem umfangreicheren Wirtspflanzenkreis. Sie birgt aber für den Nematoden auch die Gefahr, daß hier einmal das Endstadium einer Artreihe erreicht wird, das über kurz oder lang zugrunde geht, wenn sie nicht durch Mutationen gerettet werden.

Zusammenfassung.

Der von Liebscher vor 50 Jahren beschriebene Göttinger Erbsennematode (Heterodera göttingiana) wurde einer erneuten morphologischen und biologischen Prüfung unterworfen, um festzustellen, ob und in welchem Umfange durch den seit 1892 eingeführten Fruchtfolgeplan eine Veränderung des Nematoden eingetreten ist. Die Untersuchung ergab, daß der Nematode seine spezifischen Eigenschaften beibehalten hat, so daß es berechtigt ist, ihn als eine besondere Art anzusehen. Weiterhin zeigt er eine nahe Verwandtschaft zum Kleenematoden, der mit ihm vielleicht artgleich ist. Beide treten auffallenderweise auf oder zumindest in der Nähe von Böden auf, die durch Hafernematoden verseucht sind. Es liegt die Vermutung nahe, daß sich die Leguminosennematoden aus dem Hafernematoden oder doch aus einer beiden gemeinsamen, primitiveren Form entwickelt haben.

Schrifttum.

1. Capus, J., Sur un dépérissement des cultures de pois en Gironde du à la double action de l'Hétérodera schachtii et du Fusarium vasinfectum. (Bull. Soc. Etud. Vulg. Zool. Agr. Bordeaux. T. 16. 1917. p. 7—8, 70—73, 87—91.) — 2. Edwards, E. E., On Heterodera schachtii, with special reference to the oat race in Britain. (Journ. Helminth. Vol. 13. 1935. p. 129—138.) — 3. Fujita, K., and Miura, O., On the parasitism of Heterodera schachtii on beans. (Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc. Vol. 13. 1934. p. 359—364.) Refer. Helminth. Abstr. Vol. 3. 1934. p. 184. — 4. Goffart, H., Richtlinien für die Prüfung von Nematodenmitteln. In: Trappmann u. Mitarb., Methoden zur Prüfung von Pflanzen- und Vorratsschutzmitteln. (Mitt. a. d. Biol. Reichsanst. Heft 55. 1937. S. 155—164.) — 5. Hollrung, M., Das Auftreten der Rübennematoden an Erbsen und anderen Leguminosen. (Neue Ztschr. f. Rübenzuckerind. Bd. 25. 1890. S. 123.) 6. Kuwayama, S., The principal insect pests of the soy bean in Hokkaido. 1926. (Refer. Rev. appl. Entomol. Ser. A. Vol. 14. 1927. p. 329.) — 7. Liebscher, G., Beobachtungen über das Auftreten eines Nematoden an Erbsen. (Journ. f. Landwirtsch. Bd. 40. 1892. S. 357—368.) — 8. Triffitt, M., On the eelworm Heterodera schachtii attacking peas in Britain. (Journ. Helminth. Vol. 9. 1931. p. 175—178.)

Der Kleeblattkäfer (Phytonomus punctatus F.), ein Schädling von Klee und Luzerne.

[Aus der Zweigstelle Kiel-Kitzeberg der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft.]

Von **O. Kaufmann.**

Mit 17 Abbildungen im Text.

I. Vorwort.

Der Kleeblattkäfer ist, wie sein naher Verwandter, der Luzerneblattnager (*Phytonomus variabilis* Herbst), in Europa beheimatet und hier vor allem in den Mittelmeerländern wiederholt schädlich aufgetreten. In Amerika hat er etwa um das Jahr 1881 zuerst Fuß gefaßt und ist dann verhältnismäßig schnell nach Süden und Westen vorgedrungen.

Soweit die nicht gerade sehr umfangreiche Literatur Aufschluß gibt, ist das Massenauftreten des Käfers in der Alten wie in der Neuen Welt zwar wiederholt recht heftig, aber immer nur von kurzer Dauer gewesen. Für das östliche Amerika scheint die Regel zu sein, daß es schon nach kurzer Zeit durch eine Pilzseuche zum Stillstand kommt. In Deutschland sind bisher keine Untersuchungen über diesen Schädling angestellt worden. Die vorliegenden Beobachtungen lassen aber vermuten, daß der Käfer bei uns eine größere Bedeutung besitzt als bisher angenommen wurde, und daß er infolge seiner sehr versteckten Lebensweise nur zu oft übersehen worden ist.

Phytonomus punctatus ist ein Wechselbrüter mit zwei nicht voneinander abstammenden Generationen innerhalb Jahresfrist. Die Fortpflanzungszeit der einen fällt zur Hauptsache in den Herbst, die der anderen in das Frühjahr. Im Gegensatz hierzu ist sein Gattungsgenosse *Phytonomus variabilis* ein typischer Warmbrüter, dessen Eiablage in den Frühjahrs- und Sommermonaten erfolgt. Über ihn ist in einer anderen Arbeit vom Verf. ausführlich berichtet worden. Nach Abschluß der vorliegenden Untersuchungen war es daher möglich, Vergleiche zwischen den beiden nahe verwandten und in ihrer Lebensweise stark voneinander abweichenden Käferarten zu ziehen.

II. Systematik.

Der Kleeblattkäfer wurde zuerst im Jahre 1775 von Fabricius als *Curculio punctatus* beschrieben und ist seitdem unter wechselnden Artnamen auch verschiedenen Gattungen zugeteilt worden. In den Vereinigten Staaten wird er, wie gelegentlich auch der Luzerneblattnager, der Gattung *Hypera* zugeschrieben und dort meistens als *Hypera punctatus* Fabr. bezeichnet. In Europa dagegen betrachtet man ihn als der Gattung *Phytonomus* zugehörig und führt ihn unter der Bezeichnung *Phytonomus punctatus* F. Eine vollständige, sehr lange Liste, vor allem der systematischen Arbeiten und der zahlreichen Synonyme, gibt Titus (1911) in seiner Arbeit „The Genera Hypera and Phytonomus“.

III. Morphologie.

A. Das Ei.

Die Eier von *Phytonomus punctatus* (Abb. 1) sind stumpf elliptisch, gelegentlich auch abgeflacht, gebogen oder eiförmig. Kurz nach der Ablage haben sie eine mattgelbe Farbe. Die Oberfläche ist regelmäßig hexagonal gefeldert. In dem Maße, wie die Entwicklung des Embryos voranschreitet, verschwindet die gelbe Farbe und die Eier werden schmutzig gelbbraun oder olivfarben. Sie sehen dann besonders an der Peripherie wie angeräuchert aus. Die Oberfläche verliert zwar ihren Glanz nicht ganz, zeigt aber in der Regel eine feine Runzelung, die auch in der Abb. 1 bei dem Ei in der Mitte der oberen Reihe zu erkennen ist. Die durchschnittliche Länge frisch abgelegter Eier beträgt 0,93 mm, die größte Breite im Mittel 0,57 mm. Mit fortschreitender Entwicklung der Embryonen werden die Eier ein wenig kleiner, vor allem kürzer.



Abb. 1. Eier von *Phyt. punctatus*, oben rechts und unten mit Embryonen.

B. Die Larve.

Die Larven von *Phytonomus punctatus* sind fußlos und durchlaufen vier Stadien. Die Länge der Junglarven beträgt im Mittel fast 3,5 mm, diejenige der Larven II gut 5 mm, der Larven III knapp 1 cm und der Altlarven 1,3 cm, im Maximum bis 1,5 cm. Die Angaben von Tower und Fenton (1920) sind auffallenderweise durchgehend geringer. Die mittleren Kopfkapselbreiten aller vier Stadien sind 0,356 mm, 0,508 mm, 0,756 mm und 1,141 mm, verhalten sich also wie 1 : 1,4 : 2,1 : 3,2. Die Beborstung der Larven, die ähnlich wie bei *Phytonomus variabilis* in der Jugend etwas spärlicher ist, kann aus Abb. 2 ersehen werden, während die Gestalt aus Abb. 3 zu erkennen ist (wegen der Morphologie der Larven von *Phytonomus variabilis* vgl. Kaufmann, 1939).

I. Stadium: Die frisch geschlüpfte Larve, so lange sie noch keine Nahrung aufgenommen hat, ist schmutzig gelb, gelegentlich auch leicht grau, weißlich oder gelbgrünlich. Der Kopf ist verhältnismäßig glänzend; makroskopisch erscheint er schwarz und nur bei stärkerer Vergrößerung schwarzbraun. Die dreiteilige Naht am Kopfe ist heller und deutlich sichtbar. Das Nackenschild am ersten Thoracalsegment ist schmutzig hell graubraun. Borsten und Stigmen sind nur bei starker Vergrößerung zu erkennen. In dem Maße, wie die Tiere Nahrung zu sich genommen haben, verfärbt sich der Körper, da der Mageninhalt durchscheint, ins grünliche oder gelbgrüne, gelegentlich auch in schmutzig grau. Das helle Band auf dem Rücken ist noch nicht zu erkennen; nur bei starker Vergrößerung ist auf der Rückenmitte bei bestimmter Beleuchtung ein hellerer Streifen leicht angedeutet.

II. Stadium: Der Kopf ist im zweiten Stadium wesentlich heller als im ersten, und zwar graubraun. Die Grundfarbe des Körpers ist je nach dem Alter und wohl auch individuell etwas verschieden, und zwar schmutzig gelb bis grünlich. Ältere Stücke können auch schon einheitlich grün sein. Bisweilen ist das hintere Ende des Körpers heller und mehr gelb, das vordere dagegen mehr grün. Die Rückenlinie ist bei allen Stücken deutlich zu erkennen, und zwar als schmutzig gelb-weißliches Band, das vorn auf der Brust am schmalsten ist und seine größte Breite hinter der Mitte des Körpers besitzt. Eine farbige oder dunkle Einfassung dieses Rückenstreifens ist noch nicht zu erkennen. Die Unterseite des Körpers, etwas unterhalb der Stigmen beginnend,

ist ein wenig heller und mehr gelblicher als die Oberseite. Die Mundwerkzeuge sind dunkler braun als die Kopfkapsel. Die Augen sind schwarz. Das Nackenschild ist nur noch ganz schwach als schmutzig graue Fläche zu erkennen. Bei mittlerer Vergrößerung sind die Borsten als kleine schwarze Pünktchen sichtbar. Bei älteren Stücken ist gelegentlich schon ein Fleckigwerden des Körpers infolge beginnender Fettablagerung bemerkbar.

III. Stadium: Der Kopf ist jetzt schmutzig hell ockerfarben und wirkt wie durchsichtig. Die Augen sind dagegen noch schwarz, die Mundwerkzeuge mehr oder weniger dunkelbraun. Die Grundfarbe des Körpers ist im ganzen dunkler und mehr grün geworden, die Unterseite ist auch jetzt noch heller als die Oberseite und mehr gelblich. Das Grün der Larven ist verhältnismäßig hell und im Ton im ganzen lichter als die Oberseite der Klee- und Luzerneblätter. Die Farbe gleicht am ehesten der Unterseite jüngerer Luzerneblätter. Der Rückenstreifen ist bei allen Larven als weißliches, weißgelbes oder auch etwas gelbrötliches Band deutlich sichtbar. Es beginnt wiederum verhältnismäßig schmal am Kopfe und erlangt seine größte Breite in der Regel hinter

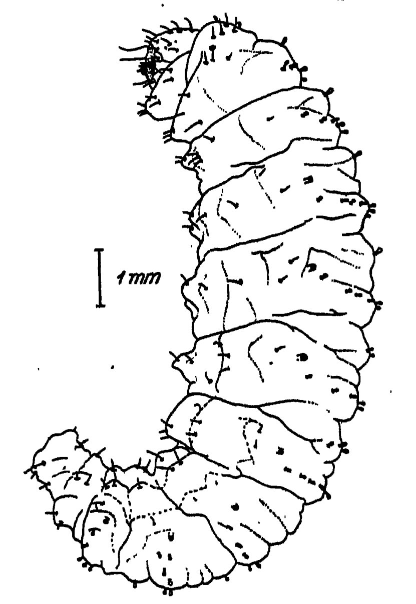


Abb. 2. Larve von *Phyt. punctatus*, 4. Stadium.

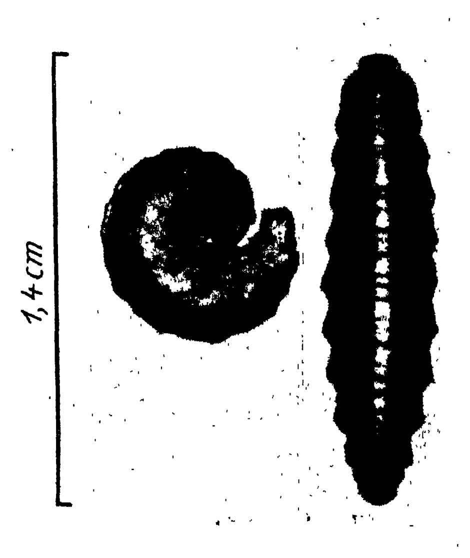


Abb. 3. Altlarve von *Phyt. punctatus*, links eingerollt.

der Körpermitte. Bei der Mehrzahl der Tiere ist das Rückenband durch einen mehr oder weniger deutlich unterbrochenen farbigen Saum eingefaßt. Er ist in der Regel rotbraun, zeigt aber nicht selten auch rein rötliche, rosa- oder rostfarbene Töne. Manchmal spielt die Farbe auch ins Violette oder Pfirsichfarbene. Dieser farbige Saum ist auf den Brustsegmenten in der Regel nur schwach und nimmt mit zunehmender Breite des Rückenstreifens, also gegen das Körperende hin, zu. Auf den letzten Abdominalsegmenten sind die farbigen Einfassungen nicht selten wieder verwischt. Infolge der hell schmutzig gelben Farbe des Kopfes ist die dreiteilige Kopfnaht nur noch schwach, jedenfalls deutlich schwächer zu erkennen als beim zweiten Stadium. Bei Lupenvergrößerung ist dagegen die Beborstung sowohl des Kopfes als auch auf der Körperoberfläche gut sichtbar.

IV. Stadium: Der Kopf ist beim vierten Stadium ganz ähnlich gefärbt wie beim dritten, vielleicht sogar durch unregelmäßig verteilte blaß braune Flecke etwas dunkler wirkend als bei der Larve III. Die Augen sind wiederum schwarz, die Mundwerkzeuge braun. Die dreiteilige Kopfkapselnaht ist nur durch einen etwas helleren Ton und durch das Fehlen der braunen Zeichnung schwach zu erkennen. Die Grundfarbe der Larven ist das gleiche Grün wie im dritten Stadium. Auch jetzt ist die Unterseite deutlich heller und mehr gelblich als die Oberseite. Der Rückenstreifen ist auf den Brustsegmenten nur undeutlich und erreicht wiederum seine markanteste Ausbildung

in der zweiten Körperhälfte. Dasselbe gilt von der farbigen Einfassung, die jetzt häufig noch schärfer hervortritt als im dritten Stadium. Die Beborstung am Kopfe und am Körper ist ähnlich wie beim dritten Stadium und noch besser zu erkennen. Die Ablagerung von Fettmassen wird besonders deutlich, und die grüne Farbe dadurch schmutzig und fleckig. Die mehr oder weniger rötliche, pfirsichfarbene oder bräunliche Färbung oder Fleckung auf der Oberseite der letzten Abdominalsegmente ist auch jetzt noch vorhanden.

Neben den hier beschriebenen grünen Larven, die als Normaltyp anzusprechen sind, kommen in beschränkter Anzahl auch solche mit roter oder gelber Grundfarbe vor. Die gelben Larven sind verhältnismäßig am seltensten. Ihr Körper ist in der Regel hell ockergelb und die Rückenstreifen sind weißgelb mit mehr oder weniger deutlicher dunkler Einfassung bei den älteren Stadien. Die sattgrüne Farbe fehlt diesen Tieren entweder vollkommen oder ist nur fleckenweise vorhanden. Gelegentlich zeigen sie aber etwas rötliches Pigment, besonders an den letzten Hinterleibsegmenten. Häufiger als die gelben sind rötliche Larven. Schon im ersten Stadium machen sich die Unterschiede gegenüber dem Normaltyp dadurch bemerkbar, daß die Farbe nicht schmutzig weißgrau ist, sondern einen mehr graublauen Ton besitzt. Diese Neigung zunächst zu blaugrau, dann zu blauviolett und später zu rötlich violetten Tönen ist schon im zweiten Stadium deutlicher und bei der Larve III ganz ausgeprägt vorhanden. Beim vierten Stadium überwiegt in der Regel der rotviolette Ton, der bisweilen ins Bräunliche spielt. Das Rückenband ist hell weißgelb und unterbrochen von dunkel rotbraunen Streifen oder Flecken eingefaßt. Die Unterseite bis etwas oberhalb der Stigmen ist deutlich heller und schmutzig gelbrot. Die Farbe ist an der Seite etwa in Höhe der Stigmen am hellsten. Kopf und Borsten besitzen denselben Farbton wie bei den grünen Larven. Nicht selten kommen auch rötliche Exemplare vor, bei denen das Rot sich nicht einheitlich über den ganzen Körper erstreckt, sondern in mehr oder weniger dichten Flecken und Sprenkeln auftritt. Bisweilen werden auch die blaugrauen bzw. mehr violetten Töne bis zum letzten Stadium beibehalten.

Bei den Farbvarietäten handelt es sich offenbar nicht um Umwelteinflüsse, sondern um erbliche Anlagen. Käfer, die aus derartig roten Larven hervorgingen, zeigten gegenüber dem Normaltypus keine wesentlichen Abweichungen. Nur die Durchsetzung mit braunen und schwarzen Flecken auf den Flügeldecken scheint etwas lebhafter, während die gelben Farbtöne an den Seiten vielleicht etwas ausgedehnter und markanter auftreten. In einem Falle wurden 2 Käfer, die aus roten Larven hervorgegangen waren, miteinander gepaart. Von 17 durchgezogenen Nachkommen waren 5 Larven normal grün, dagegen 12 als jüngere Larven einheitlich blaugrau bis violett und als ältere Stadien violettrot bis braunrot.

C. Die Vorpuppe.

Nachdem die Larve sich in ihrem Kokon eingesponnen hat, stellt sie ihre verhältnismäßig lebhaften Bewegungen ein und verwandelt sich zur Vorpuppe. Der Körper wird dabei, wie auch aus Abb. 4 zu erkennen ist, leicht ventral eingebogen und schrumpft mehr und mehr unter deutlicher Verkürzung zusammen. Die größte Breite des Tieres, die bisher hinter der Körpermitte gelegen hat, verlagert sich jetzt zu den Brustsegmenten hin, wo die imaginalen Organe in der Hauptsache gebildet werden. Auch der Kopf wird zusehends an den Körper herangezogen. Die Farben verändern sich zwar nicht wesentlich, werden aber doch trüber und stumpfer.



Abb. 4. Larve von *Phyt. punctatus* bei der Verwandlung zur Vorpuppe.

D. Die Puppe.

Die Gestalt der Puppe ist aus Abb. 5 zu ersehen. Die durchschnittliche Länge beträgt 7,9 mm, die maximale über 9 mm; die größte Breite im Mittel 4,4 mm. Die Größenunterschiede der Geschlechter machen sich schon bei den Puppen deutlich bemerkbar. Aus den großen Exemplaren gehen in der Regel die Weibchen und aus den kleineren die Männchen hervor. Die Farbe der Puppen ist im Vergleich zu den Larven IV erheblich heller geworden. Nur der Hinterleib zeigt noch annähernd die Färbung wie bei den Larven, spielt aber mehr ins Blaugraue. Hier ist auch das helle über den Rükken verlaufende Band noch deutlich zu erkennen. Es ist nahe dem Hinterende am breitesten und verliert sich auf den Brustsegmenten. Die dunkle Einfassung ist in der Regel verschwunden. Halsschild und Brust sind hellgelb bis smaragdgrün. Der Kopf einschließlich des Rüssels sowie die Flügel und Beine sind blaß weißgrün oder auch gelbgrün bis lindfarben. Die Beborstung der Puppe ist sehr kurz und spärlich. Nur am Hinterleibsende stehen kurze, kräftige Borsten in größerer Anzahl. Am Halsschild sind ebenfalls nur wenige kurze Borsten vorhanden. Die langen Borsten, die hier bei dem Gattungsgenossen *Phytonomus variabilis* auffallen und in gewissem Sinne eine Aufhängevorrichtung darstellen, fehlen bei dieser Art ganz. Ein Fortschritt in der Entwicklung macht sich äußerlich am ehesten durch die Verfärbung der Augen bemerkbar, die zunächst rotbraun durch die Puppenhaut hindurchscheinen. Es folgen dann die Mundwerkzeuge, die Klauen, Tarsen, die Beingelenke und schließlich auch der Rüssel sowie die Schenkel und Schienen (vgl. auch Abschnitt F).



Abb. 5. Puppe von *Phyt. punctatus*, von oben, von der Seite und von unten.

E. Der Käfer.

Die nachfolgende Beschreibung des Kleeblattkäfers (siehe Abb. 6) ist im wesentlichen der Arbeit von Tower und Fenton (1920) angelehnt, die eine schon von Titus (1911) gebrachte ausführliche Beschreibung noch ergänzt haben. Bei diesen Autoren befindet sich auch eine Beschreibung der übrigen Entwicklungsstadien.

Volltier: Länge 5—10 mm, Breite 3—7 mm, Käfer dick und plump, schwarz oder braunschwarz. Bedeckt mit schwarzbraunen, blaßbraunen, gelbbraunen oder grauen Schuppen, die kurz und breit und an den Enden zugespitzt sind. Außerdem kurze, aufrechte Borsten; der Rand der Flügeldecken ist gelbbraun oder wenigstens blasser als der übrige Teil der Elytren.

Der Kopf ist bedeckt mit kurzen, elastischen, gelblichen Borsten; Stirn nicht so breit wie die Breite des Auges, bedeckt mit dunkelgelben Haaren oder Borsten, die sich über zwei Drittel des Rüssels erstrecken; Augen länglich oval, unten verengt und ziemlich vorstehend; Rüssel kaum zwei Drittel der Länge des Prothorax, an der Spitze verdickt, unten an den Seiten und nahe der Spitze poliert und leicht punktiert; eine verlängerte Grube auf der Oberseite oberhalb der Fühlergrube. Die Fühlergrube ist

schwarz, tief, punktiert. Fühler rötlich-schwarz. Der Schaft erreicht die Augenmitte, ist nicht so lang wie die Keule und nicht stark zur Spitze hin erweitert. Erstes Glied der Keule deutlich länger als das zweite; die Glieder 3—7 regelmäßig kürzer und breiter, sieben ebenso lang wie breit; die Keule länglich oval, am Ende zugespitzt; die Antennen mit vielen feinen Haaren, diejenigen an der Keule sehr fein und dünn. Die Mandibeln sind glänzend, vollrot und nicht an den Enden zugespitzt, die Maxillen und alle Palpen braunrot.

Prothorax breiter als lang, beim Weibchen noch breiter als beim Männchen, beim Weibchen am stärksten verbreitert vor der Mitte, im männlichen Geschlecht konvergiert der Prothorax nicht so weit vorn wie beim Weibchen. Rückenseite dicht und ziemlich grob punktiert, dicht bedeckt mit Schuppen und mit vielen dünnen, zugespitzten Haaren; gewöhnlich mit einer schmalen, blassen, dorsalen Mittellinie, die von großen, dunklen, ziemlich schwarzen Punktreihen begrenzt wird und die bis an die Seite reichen; seitlich und unterseits mit dunkelgelben Schuppen, im allgemeinen mit einem dunklen Fleck an den Seiten hinten und mit einer undeutlichen dunklen Linie, die von diesem Fleck nach vorne verläuft. Das Scutellum ziemlich klein, nahezu dreieckig, bedeckt mit blassen Schuppen.

Die Elytren sehr breit, am Ende breit gerundet, die Seiten besonders beim Männchen nahezu parallel, Schultern vorstehend und bedeckt mit dunklen Borsten. Längs-

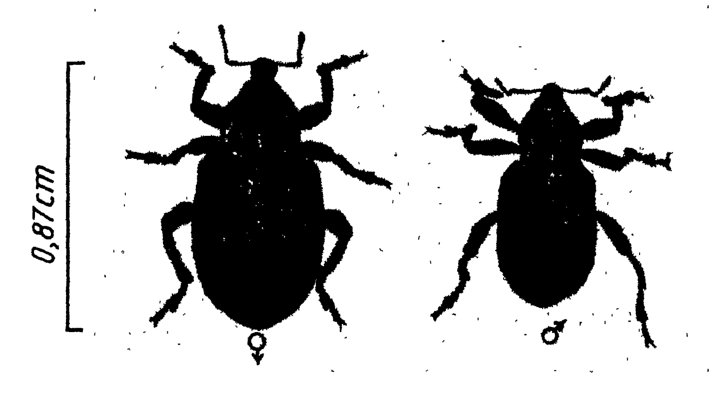


Abb. 6. *Phyt. punctatus* F.

furchen und abwechselnde Zwischenräume etwas stärker erhoben als die übrigen, tief streifig punktiert, Streifenlinie ohne Borsten; jeder Zwischenraum mit einer einzigen Reihe von schwarzen Borsten, die nach hinten zugespitzt sind und teilweise anliegen, hinten mehr erhoben; Ende der Flügeldecken und oftmals die Seiten mit einigen kurzen, weißen Haaren. Die Farbe der Schuppen variiert zwischen grau, schwarz und verschiedenen Schattierungen von braungelb. Einige Stücke sind schachbrettartig gemustert mit bräunlich gelben und schwarzen Flecken, wobei sich die Felderung gewöhnlich mehr auf die erhobenen Längsleisten erstreckt.

Im männlichen Geschlecht besitzen die äußeren Längsleisten auf den Flügeldecken blassere Schuppen, sogar bei den dunkelsten Stücken.

Beim Weibchen ist diese blasse Färbung manchmal, wenn auch selten, vollkommen verschwunden.

Unterseite mit heller gefärbten Borsten und zahlreichen hellen Haaren; die Vorderhüfte leicht getrennt, Mesosternalfortsatz zwischen den Mittelhüften breit pendelartig gestaltet und dreieckig an der Spitze; Intercoxalfortsatz des ersten Abdominalsegmentes sehr breit, die Hüften um mehr als ihre eigene Breite voneinander getrennt. Das erste Segment beim Männchen eingedrückt, hinten zugespitzt.

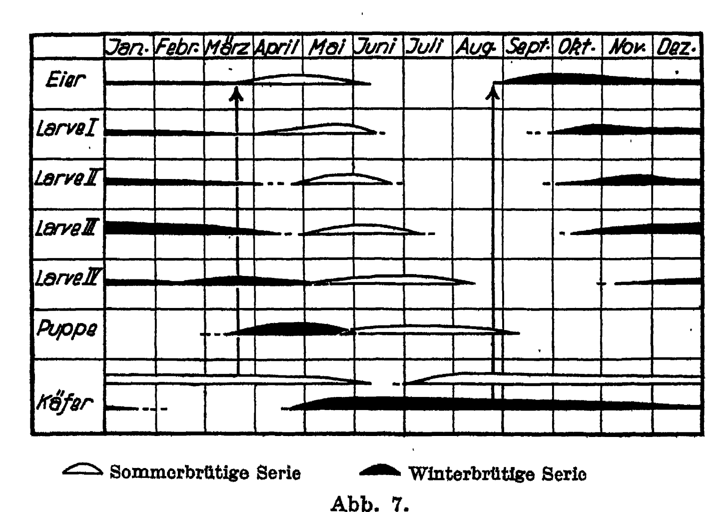
Beine kurz, kräftig, besonders die Oberschenkel; schwarz, Tarsen oft rostfarben, Klauen lang gebogen, rot und dunkel an der Spitze; Vordertibien und hintere Oberschenkel deutlich gebogen, Vordertibien stärker gebogen beim Männchen; die Beine gewöhnlich bedeckt mit helleren Schuppen und Haaren als der Körper, Oberschenkel beschuppt, Tibien und Tarsen spärlich behaart, Mitteltibien mit einem deutlichen apikalen Haken.

IV. Lebensgeschichte.

A. Überwinterung und Generationsfolge.

Da der Lebensablauf des Kleeblattkäfers verhältnismäßig kompliziert ist, beginnen wir zum besseren Verständnis der einzelnen Phasen der Lebensgeschichte mit einer Gesamtdarstellung der Überwinterung und Generationsfolge. Die Zusammenhänge sind am leichtesten durch Vergleich mit der Abb. 7 zu verstehen:

Es treten zwei Serien von Käfern auf, von denen die eine im Herbst, die andere im Frühjahr zur Fortpflanzung kommt. Wir beginnen mit der Herbstserie. Die Eiablage setzt Ende August ein, hat im September und Oktober ihren Höhepunkt und geht in der Regel im November mit dem Einbruch kühlerer Temperaturen zu Ende. Einzelne Eier können offenbar auch noch in den Wintermonaten bei vorübergehend höheren Temperaturen abgesetzt werden. Aus diesen Eiern entwickeln sich ab September die Junglarven, die ihren zahlenmäßigen Höhepunkt etwa Ende Oktober haben.



Sommerbrütige Serie Winterbrütige Serie

Abb. 7.
Generationsfolge der kühlbrütigen und warmbrütigen Serie von *Phyt. punctatus*.

Die spät geschlüpften Tiere überwintern in diesem Stadium und verwandeln sich in den ersten Monaten des nächsten Jahres. Die Mehrzahl häutet sich jedoch und ab Anfang Oktober treten Larven II in Erscheinung. Auch von diesen gelingt es noch einer großen Anzahl, das nächst höhere Stadium zu erreichen, während der Rest überwintert. Dritte Stadien treten ebenfalls schon im Oktober auf und in diesem Stadium überwintert die Mehrzahl dieser winterbrütigen Serie. Nur verhältnismäßig wenigen gelingt es, noch vor Anbruch des nächsten Jahres das Altlarven-Stadium zu erreichen. In den Monaten Januar und Februar finden wir infolgedessen als überwinternde Stadien neben spät abgelegten Eiern, die ihre Entwicklung nicht mehr vollenden konnten, einen geringen Prozentsatz Larven I, einen etwas höheren an Larven II, in der Hauptsache dagegen Larven III. Altlarven treten in verstärkter Zahl erst Ende Februar und im März in Erscheinung. Die Verpuppung setzt bei einzelnen Tieren vielleicht schon im Februar ein, in der Hauptsache fällt aber die Puppenruhe der Winterbrut in die Monate März, April und Mai. Etwa ab Mitte April erscheinen aus dieser Serie die ersten Jungkäfer.

Neben dieser winterbrütigen Serie läuft nun eine zweite, die frühjahrs- und sommerbrütig ist. Ihre Fortpflanzungszeit beginnt gegen Ende März, fällt zur Hauptsache in die Monate April und Mai und endet im Juni. Aus den Eiern dieser Gruppe entwickeln sich, wie aus Abb. 7 ersichtlich ist, in den Monaten April, Mai, Juni und Juli die 4 Larvenstadien. Die Puppenruhe dieser Serie beginnt in der zweiten Mai-

hälfte, schließt also an die Puppenruhe der winterbrütigen Serie unmittelbar an. Die Puppen der sommerbrütigen Gruppe ergeben die ersten Jungkäfer Anfang Juli.

Man könnte nun geneigt sein, die im September abgelegten Eier auf die ab Juli erscheinenden Jungkäfer zu beziehen und die im April und Mai abgelegten auf die ab Mitte April und später erscheinenden Jungkäfer der als Larve überwinternden Serie. Das würde heißen, daß *Phytonomus punctatus* zwei Generationen innerhalb Jahresfrist durchläuft, von denen die eine herbst- bzw. winterbrütig, die andere dagegen sommerbrütig ist. So einfach liegen die Dinge aber offenbar nicht. Wäre diese Lesart richtig, so müßten z. B. die ab Mitte April und in der Hauptsache erst im Mai erscheinenden Jungkäfer, die aus den überwinterten Larven hervorgehen, nur einen ganz kurzen Reifungsfraß durchmachen, damit man die im April und Mai vorhandenen Eier auf sie beziehen kann. Die Ende März und vor allem in der ersten Aprilhälfte aber zahlreich vorhandenen frisch abgelegten Eier ließen sich auf die erst ab Mitte April erscheinenden Jungkäfer nicht beziehen. Im Gegensatz dazu aber würden die ab Anfang Juli auftretenden Jungkäfer eine Reifungszeit von etwa 2 Monaten durchmachen. Dies ist schon rein theoretisch recht unwahrscheinlich, wenn man nicht für die im Hochsommer schlüpfenden Tiere eine Art Sommerruhe annehmen will. Dafür liegen aber nicht die geringsten Anzeichen vor. Die vorgefundenen Verhältnisse lassen sich jedoch zwanglos erklären, wenn man die im Herbst abgelegten Eier auf die in der Hauptsache im Mai geschlüpften Jungkäfer bezieht, dagegen die Eiablage im Frühjahr (April und Mai) auf Käfer, die im Juli und August geschlüpft sind und ihre Geschlechtsreife erst nach Überwinterung auf dem Felde im Frühjahr erreichen. Hierzu wäre allerdings Voraussetzung, daß die im Mai geschlüpften Käfer aus der Winterserie erst nach 3—4monatigem Reifungsfraß ihre Geschlechtsreife erreichen. Dies ist auch tatsächlich der Fall, wenn man aus Laboratoriumszuchten auf das Verhalten der Tiere im Felde schließen darf.

In 21 zu verschiedener Jahreszeit mit gezogenen Jungkäfern angesetzten, zum Teil umfangreichen Zuchten wurde im Minimum die Eiablage erst nach 51, im Durchschnitt nach 128 Tagen und im Maximum erst nach 289 Tagen erzielt. Daß die Käfer aus der sommerbrütigen Serie nicht ebenfalls noch im gleichen Jahre mit der Eiablage beginnen, ist nicht weiter erstaunlich, da der nahe Verwandte *Phytonomus variabilis*, der in Deutschland, wie viele andere sommerbrütige Insekten, nur eine Generation durchläuft, ebenfalls im Juli als Imago erscheint und dann entweder auf dem Schlage selbst, wie *Phytonomus punctatus*, oder in besonderen Winterlagern abseits der Felder überwintert, um ebenfalls ab April, in der Hauptsache aber erst im Mai mit der Eiablage zu beginnen (vgl. auch „Zeitpunkt und Dauer der Eiablage" S. 100).

Da bei dem Kleeblattkäfer die beiden Serien nicht auseinander hervorgehen, kann man also auch nicht von zwei Generationen sprechen, die innerhalb Jahresfrist durchlaufen werden. Es sind vielmehr zwei getrennte Serien, die nacheinander auftreten bzw. in manchen Stadien auch nebeneinander, und die sich bis zu einem gewissen Grade sogar überschneiden. Die Überwinterung der sommerbrütigen Serie findet lediglich als unreifer Käfer auf dem Felde statt, diejenige der winterbrütigen Serie dagegen zu einem geringen Prozentsatz als Ei und Larve I, häufiger als Larve II und IV, in der Hauptsache aber als Larve III. Daß daneben noch eine namhafte Anzahl von Käfern dieser Serie überwintert, ist unwahrscheinlich.

Die vorstehend geschilderten Generationsverhältnisse haben vorerst nur für Schleswig-Holstein mit seinem relativ milden Küstenklima Geltung. Für kontinentale Klimate sind entsprechende Untersuchungen noch durchzuführen.

B. Der Käfer.

1. Aufenthalt im Kokon.

Die Oberseite des frisch geschlüpften Käfers ist für kurze Zeit blaß weißgelblich gefärbt, während die Unterseite, besonders des Hinterleibes, hell blaugrau ist. Nur die stark chitinisierten Teile, die schon bei der schlüpfreifen Puppe auffallen, so besonders die Mandibeln, die Augen, Klauen und große Teile des Rüssels, sind rotbraun. Je nach der Temperatur verschieden schnell, im ganzen aber verhältnismäßig rasch, geht dann die weitere Ausfärbung vor sich. Die Grundfarbe des Körpers bekommt zunächst einen silberigen Glanz, wird dann schmutzig ockerfarben und schließlich gelbbraun. Inzwischen färben sich auf den Flügeldecken zuerst die später schwarzen Flecke und die Beine, und auch der Rüssel und das Halsschild werden zunehmend dunkler braun. Ehe noch die Ausfärbung vollendet ist, werden auch die häutigen Flügel unter den Flügeldecken hervorgestreckt. Sie nehmen ihre endgültige Gestalt und Größe an und werden dann bald wieder eingeschlagen. Im wesentlichen ist die Ausfärbung innerhalb von 1—2 Tagen beendet. Eine gewisse Nachdunkelung findet allerdings auch später noch statt, während die Erhärtung sogar erst zum Abschluß kommt, wenn der Käfer den Kokon schon lange verlassen hat und mit der Nahrungsaufnahme beschäftigt ist.

Dem geringen Temperament des Käfers entsprechend sind auch seine Bewegungen innerhalb des Kokons nur sehr langsam und verhältnismäßig sparsam. Bei einer vorzeitigen Befreiung aus dem Gespinst zeigt sich aber, daß das Tier zu geregelten Laufbewegungen schon fähig ist, wenn der Ausfärbungsprozeß noch lange nicht abgeschlossen ist. Die gesamte Aufenthaltsdauer des Käfers im Kokon beträgt im Mittel aus zahlreichen Versuchen z. B. bei den Temperaturen 17° und 24° knapp 4 bzw. 1,4 Tage.

Der Käfer befreit sich aus seinem „Gefängnis“, indem er die dicken, inzwischen spröde gewordenen Stränge des netzartigen Kokons durchbeißt. Dabei wird entweder ein Spalt hergestellt, durch den er sich hindurchzwängt, oder es wird ein Stück des Maschenwerkes herausgebissen. In der Zuchtschale kommt es dabei nicht selten vor, daß erhebliche Teile oder auch das ganze Gespinst vom Käfer aufgefressen werden. Ob dies im Freilande auch der Fall ist, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

2. Lebensweise und Reifungsfraß.

Phytonomus punctatus führt ein ausgesprochen verborgenes Dasein auf unseren Klee- und Luzernefeldern. Trotz seiner recht beachtlichen Größe gelangt er nur selten zur Beobachtung, und beim Abfangen der Schläge auch nur selten ins Netz. Man muß auf dem Boden und besonders zwischen den Stoppelresten gründlich nachsuchen, wenn man die Tiere entdecken will. Selten gelingt es dabei, sie in Bewegung anzutreffen. Den ruhenden Käfer aber, der zwischen den Ackerschollen oder Stoppeln sitzt, und der nicht selten in einer Art Schreckstellung die Extremitäten vom Körper gespreizt hält, vermag nur das geübte Auge zu entdecken. Erschwerend kommt hinzu, daß die Tiere außerordentlich plump und träge sind und sich bei Tage nur wenig betätigen. Auch in der Literatur wird angegeben, daß *Phytonomus punctatus* hauptsächlich in der Nacht beweglich wird und zu dieser Zeit nicht nur dem Fraß, sondern auch der Fortpflanzung obliegt [Titus (1911)]. Immerhin kann man gelegentlich auch bei Tage fressende oder kopulierende

Pärchen antreffen. In der Laboratoriumszucht machten die Tiere bei der Fraßtätigkeit und der Kopulation zwischen den Tag- und Nachtzeiten keinen merkbaren Unterschied. Die Haupt-Eiablage erstreckte sich hier aber auf die Nacht und die Stunden der Dämmerung.

Eine eigentliche Winterruhe kennt der Käfer nicht. Die Tiere bleiben auf dem Felde, und die Bewegung hört auf, wenn tiefere Temperaturen einbrechen und werden wieder aufgenommen, wenn die Starre durch genügend hohe Temperaturen wieder gelöst ist. Mitten im Winter sitzen sie infolgedessen ebenso oberflächlich zwischen den Stoppeln oder in der Ackerkrume wie während der wärmeren Jahreszeit. Da der Käfer seine Ausfärbung und auch den wesentlichsten Teil der Aushärtung noch innerhalb des Kokons durchmacht, begibt er sich nach Überwindung der gelegentlich über dem Gespinst lagernden dünnen Erdschicht alsbald an seine Nährpflanze, um den Reifungsfraß durchzumachen. Dieser dauert für die im Frühjahr schlüpfenden Käfer unter Freilandverhältnissen rund 4 Monate (vgl. Abb. 7), d. h. etwa von Anfang Mai bis Anfang September. Bei dieser Serie handelt es sich um einen echten Reifungsfraß, da sich die Fortpflanzung unmittelbar an ihn anschließt. Die ab Juli schlüpfenden Käfer der sommerbrütigen Gruppe beginnen zwar nach dem Schlüpfen ebenfalls mit einem intensiven Fraß. Er führt aber bei den Weibchen nicht mehr zur Aufnahme der Eiablage im gleichen Jahre. Die Tiere überdauern vielmehr die Wintermonate auf dem Felde mit unentwickelten Ovarien, beginnen im Frühjahr erneut mit verstärkter Nahrungsaufnahme und schreiten erst etwa ab Ende März zur Fortpflanzung.

Während des Reifungsfraßes nehmen die Käfer im Vergleich zu ihrer übrigen Lebenszeit eine verhältnismäßig große Menge Nahrung in relativ kurzer Zeit auf. In diesen Monaten, d. h. vornehmlich von März bis August, kann bei einem stärkeren Auftreten des Schädlings auch der Schaden sichtbar in Erscheinung treten. Die verzehrte Blattmenge und damit auch der verursachte Schaden ist aber gering im Verhältnis zu der Nahrungsmenge, die die älteren Larven bei gleichen Temperaturen verzehren. Da die Nährpflanzen des Käfers die gleichen sind wie diejenigen der Larven, diese aber den größeren wirtschaftlichen Schaden verursachen, sollen sie nur einmal, und zwar bei Abhandlung der Larven, besprochen werden.

Das Fraßbild des Kleeblattkäfers bietet keine besonderen Merkmale. Die Tiere greifen durchweg die Blätter sowohl des Klees wie auch der Luzerne vom Rande her an und fressen mehr oder weniger große Teile heraus. Die jüngeren Blätter werden zwar vorgezogen, aber auch die älteren nicht verschont. Die Mittelrippe wird selbst bei den zarteren Blättern in der Regel unversehrt gelassen. Nur gelegentlich und besonders bei Nahrungsmangel werden auch die Blattadern, die Stiele und selbst die härteren Stengel angegriffen. Das Fraßbild ist von demjenigen des Blattrandkäfers sehr leicht zu unterscheiden, ist aber dem Schadbild der älteren *Phytonomus punctatus*-Larven recht ähnlich (vgl. Abb. 8 u. 9). Was hier über das Fraßbild der Jungkäfer gesagt ist, gilt ganz allgemein auch für die älteren Tiere. Die beiden kleineren Gattungsgenossen *Phytonomus nigrirostris* und *Phytonomus trilineatus*, die ebenfalls auf Klee zu Hause sind, erzeugen, wie aus Abb. 8 zu erkennen ist, zwar Schadbilder, die leicht miteinander, aber nicht mit dem der *punctatus*-Käfer zu verwechseln sind.

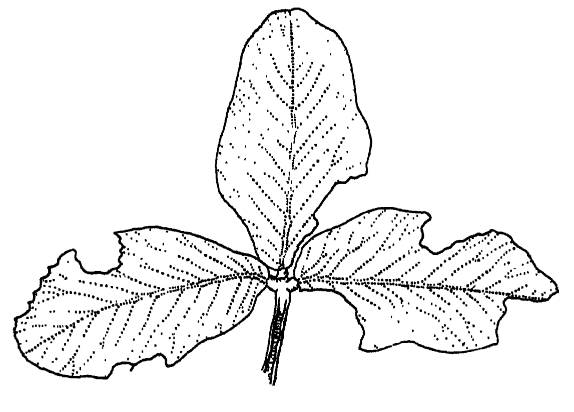
3. Fortpflanzung.

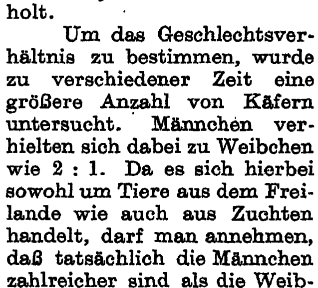
a) Kopulation und Geschlechterverhältnis.

Da *Phytonomus punctatus* sowohl als Käfer wie auch als Larve vorwiegend ein Nachttier ist, darf man annehmen, daß die Kopulation nicht nur in der Zucht, sondern auch auf dem Felde häufig über Nacht ausgeführt wird. Zu dieser Zeit konnte ich sie wenigstens im Laboratorium nicht selten beobachten.

Der Begattungsakt dauert oft viele Stunden, und wenn die Käfer einmal verbunden sind, so lassen sie sich selbst durch grobe Handhabung kaum stören. Die un-

gewöhnliche Trägheit, die die Tiere auszeichnet, zeigt sich also auch selbst während der Paarungszeit in ganz charakteristischer Weise. Die Männchen werden etwas eher geschlechtsreif als die Weibchen, und der Begattungsakt wird sowohl während der Eiablagezeit im Herbst wie auch im Frühjahr oftmals wiederholt.





Um das Geschlechtsverhältnis zu bestimmen, wurde zu verschiedener Zeit eine größere Anzahl von Käfern untersucht. Männchen verhielten sich dabei zu Weibchen wie 2 : 1. Da es sich hierbei sowohl um Tiere aus dem Freilande wie auch aus Zuchten handelt, darf man annehmen, daß tatsächlich die Männchen zahlreicher sind als die Weibchen.

b) Eiablage.

Der normale Ort der Eiablage von *Phytonomus punctatus* ist der morsche, hohle, abgestorbene oder noch im Absterben begriffene Stengel der Wirts-

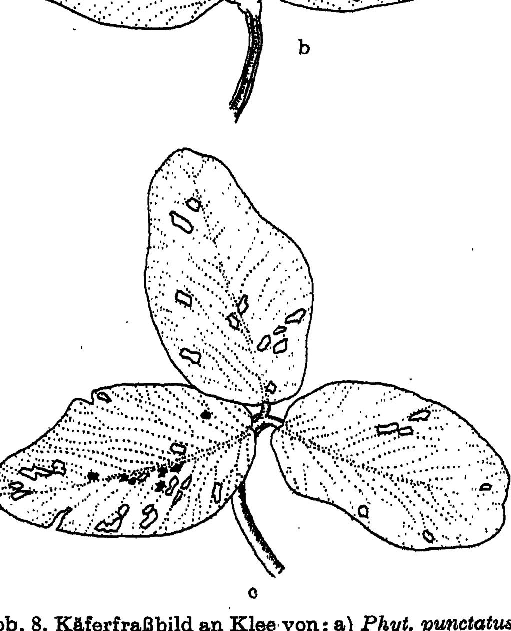


Abb. 8. Käferfraßbild an Klee von: a) *Phyt. punctatus*, b) *Phyt. nigrirostris*, c) *Phyt. trilineatus*.



Abb. 9. Fraßbild älterer Larven von: a) *Phyt. punctatus*, b) *Phyt. variabilis* an Luzerne.

pflanze, also in erster Linie von Klee und Luzerne. Nach meinen Untersuchungen werden die noch stehenden Stengel den an der Oberfläche umherliegenden älteren und meistens auch feuchteren Stengelresten vorgezogen.

Die günstigsten Gelegenheiten zur Eiablage finden die Käfer deshalb an den abgestorbenen Stoppeln, die bei älteren Pflanzen in der Regel den äußeren Kranz bilden. Es werden aber auch tote Stengel von Unkräutern, Grashalmen oder auch alte Getreidestoppeln bzw. Strohhalmstücke, die mit dem Stallmist auf das Feld gekommen sind, angenommen. Eine wichtige Vorbedingung ist nur, daß der Stengel nicht zu dick bzw. der Hohlraum nicht zu weit ist, und daß das Material genügend mürbe und vermorscht ist, so daß es dem Käfer beim Benagen nicht zu viel Widerstand entgegensetzt. Derartige hohle Stengelreste wurden nicht nur im Freilande, sondern auch in der Zucht auf relativ glatter Unterlage ohne weiteres angenommen. Hier erfolgte auch Eiablage in künstlich aus Filtrierpapier hergestellte Röhrchen. Nur wenn dem Käfer keine hohlen, toten Pflanzenteile zur Verfügung stehen, erfolgt die Eiablage an bzw. in die lebende grüne Pflanze bzw. hinter die Blattscheiden oder direkt in den Stengel. Besonders in dem letzten Fall gewinnt man aber den Eindruck, daß dies nur ein Notbehelf ist, und der Käfer nur ungern von lebenden Pflanzen Gebrauch macht, wenn es ihm an passenden toten, hohlen Stengeln fehlt. Dieser Meinung sind auch Hudson und Wood (1923), die ausgedehnte Untersuchungen über die Legegewohnheiten des Käfers angestellt haben.

Der Vorgang der Eiablage kann besonders in der Zucht, aber mit einigem Glück auch im Freilande gut beobachtet werden. Die Tiere suchen sich im Bestande zunächst die passenden Stengelteile aus. Sie erkennen offenbar instinktmäßig die vermorschten und abgestorbenen Stengel, die sich für die Eiablage am besten eignen, denn man findet nur selten die in typischer Weise angebohrten Pflanzenteile, ohne daß auch Eiablage erfolgt ist.

Hat der Käfer einen für die Unterbringung seiner Eier geeigneten Stengel gefunden, so zerbeißt er zunächst mit seinen kräftigen Mandibeln die Epidermis. Das gelockerte Material wird nicht gefressen, sondern nur beiseite geräumt. Besonders die oberflächlich gelegenen Teile werden erfaßt und hochgezogen. In der Tiefe werden Teile herausgebissen, bis allmählich ein kleines Loch entsteht, das eben groß genug ist, um die Legeröhre in die Stengelhöhlung einzuführen. Die entstandene Öffnung ist zwar rundlich, aber der Rand unregelmäßig zerzaust. Erhebliche Teile sind nach oben oder unten soweit wie möglich umgeschlagen. Sie sind dazu bestimmt, die Öffnung nach beendeter Eiablage soweit wie möglich wieder zu schließen. Da diese Herstellungsart nur an toten, vermorschten, nicht aber an grünen Stengeln möglich ist, darf man schon hieraus schließen, daß die Eiablage in tote Pflanzenteile auch am meisten dem normalen Verhalten entspricht. Die stehenden Stengel werden in verschiedener Höhe, meist aber einige Zentimeter über der Basis angebohrt. Die Regel ist, daß von einem Weibchen ein Stengel nur einmal und durch eine einzige Öffnung belegt wird. Ist jedoch Mangel an geeigneten Stoppeln vorhanden, so werden dieselben auch mehrmals belegt. Steht in der Zucht mehreren Weibchen nur ein einziger Stengel zur Verfügung, so wird dieser bei Eignung mit zahlreichen Bohrlöchern versehen und oft so stark mit Eiern beschickt, daß der größte Teil des Gesamthohlraumes damit angefüllt ist (siehe Abb. 10). Nachdem die Eiablageöffnung hergestellt ist, dreht sich der Käfer herum und versenkt sein Legerohr soweit wie möglich in das Innere der Pflanze. Am stehenden Stengel ist dabei die Regel, daß der Käfer mit dem Kopf nach unten sitzt. Je nach der Zahl der abgelegten Eier und nach Eignung des Pflanzenteiles dauert die Ablage verschieden lange. Hudson und Wood (1923) geben an, daß ein Gelege von 24 Eiern in 25 Min. abgelegt wurde; in einem anderen Falle ein Gelege von 9 Eiern in 7 Min. Wie bei allen seinen Lebensäußerungen ist der Käfer auch bei der Eiablage verhältnismäßig ruhig, nur ab und an, wenn die einzelnen Eier durch den Ovipositor in den Hohlraum der Pflanze gepreßt werden, gehen leichte rhythmische Bewegungen durch den Körper. Die ersten Eier werden

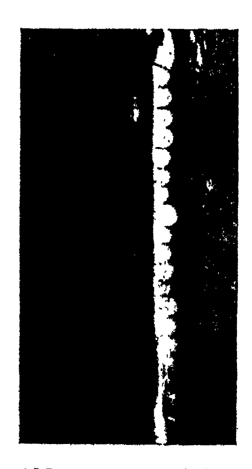


Abb. 10. Toter Kleestengel, geöffnet, mit Eigelege von *Phyt. punctatus*. Links oben das Bohrloch.

in den Hohlraum nach oben oder unten abgelegt und die nächsten dann so stark hereingepreßt, daß sie die schon vorhandenen vor sich herschieben. Besonders die letzten werden dabei oft einem erheblichen Druck ausgesetzt. Sie sind aber äußerst elastisch, und es ist nie beobachtet worden, daß Eier durch die Pressung zerquetscht worden sind. Infolge der Einengung verlieren sie allerdings häufig ihre normale, ovale Gestalt und sehen dann entweder nieren- oder bohnenförmig, mehr oder weniger in die Länge gezogen oder auch abgeflacht aus. Nach Beendigung der Eiablage und nach dem Zurückziehen des Legerohres dreht der Käfer sich wieder herum, um die Öffnung soweit wie möglich zu verschließen. Ein während und nach der Eiablage abgesondertes schleimiges Sekret und der eigenartig ausgefranste Rand der Öffnung kommen ihm dabei zu Hilfe.

Eine andere Art der Eiablage ist diejenige in oder an grüne Pflanzenteile. In der Regel sind es die Stengel, die für diesen Zweck ausgewählt werden. Die Käfer bohren ein Loch von der sonst üblichen Größe, zunächst wohl in dem Bestreben, dabei auf einen Hohlraum zu stoßen. Selbst wenn dies nicht der Fall ist, werden Eier abgelegt, aber der kleineren Grube entsprechend nur wenige, nicht selten sogar nur ein einziges, das oft noch von außen sichtbar bleibt. Wenn der Käfer dann merkt, daß es ihm nicht möglich ist, die ersten abgelegten Eier in das Innere der Pflanze zu schieben, hört er in der Regel auf. Gelegentlich werden aber trotzdem weitere Eier abgelegt, die dann in der Umgebung des Bohrloches angedrückt und angeklebt werden. Bei jedem neuen Ei, das die Legeröhre verläßt, wird erneut versucht, die schon vorhandenen in die kleine Grube hineinzupressen. Die Eier werden dabei immer wieder förmlich zusammengepreßt. Es kann vorkommen, daß der Käfer auf diese Weise selbst ein großes Gelege abstößt, das dann zu einem Klumpen zusammengedrückt und miteinander verklebt wie eine Traube vor dem kleinen Bohrloch hängt. Diese Art der Eiablage, d. h. daß Eier einzeln in grüne Blattstiele oder Stengel versenkt werden, oder daß ganze Gelege äußerlich an den Pflanzenteilen, besonders an den Stengeln hängen, ist vor allem in der Laboratoriumszucht, also unter unnatürlichen Verhältnissen, zu beobachten. Im Freilande habe ich derartige Eiablagen niemals gefunden und im Zuchtkäfig mit eingetopften Pflanzen nur höchst selten.

Über die Anzahl der Eier je Gelege und je Weibchen liegen in der Literatur bereits einige Angaben vor. Die höchsten Zahlen haben bisher anscheinend Tower und Fenton (1920) erhalten, und zwar im Herbst in Freilandzuchten. Während eines Zeitraumes von 64—68 Tagen wurden je Pärchen 74, 83, 108, 162, 166, 176, 196 und im Höchstfalle 287 gelegt. Alle diese Tiere starben im zeitigen Frühjahr, d. h. bis zum 18. Februar, ohne nochmals mit der Fortpflanzung begonnen zu haben. Auch über die Zahl der Eier je Gelege geben Tower und Fenton einige Daten. In der Regel waren es 18—24 und im Maximum 34.

Bei den eigenen Zuchten wurde in vielen Fällen die Anzahl der Eier je Gelege festgestellt, soweit diese in hohle Stengel abgelegt waren. Sie betrug im Mittel 22, im Höchstfalle 37. Die Gelege im Freilande sind erheblich kleiner. Im Durchschnitt von 83 Auszählungen waren je Ablage 7,4 Eier vorhanden, im Maximum 19.

Die Gesamtzahl der von einem Weibchen in eigenen Zuchten abgelegten Eier ging weit über die aus USA. bekannt gewordenen Daten hinaus und betrug wiederholt zwischen 1 und 2000, im Höchstfalle sogar 2270. *Phytonomus punctatus* steht damit also seinem nahen Verwandten *Phytonomus variabilis*, von dem nicht selten ebenfalls mehr als 1000 und in Ausnahmefällen auch bis zu 2000 Eier erhalten wurden [Kaufmann (1939)], um nichts nach.

Soweit sich feststellen ließ, wird in allen Literaturangaben der Herbst als Zeitpunkt der Eiablage angegeben. Nur von Folsom (nach Tower und Fenton, 1920) wird das Auftreten einer zweiten Generation bzw. die Wiederaufnahme der Eiablage von überwinternden Käfern im Frühjahr in wärmeren Gebieten für möglich gehalten. Tower und Fenton (1920) berichten auch, daß Beobachtungen, die von verschiedenen Mitgliedern des Bureau of Entomology gemacht worden sind, dafür sprechen, daß Weibchen in den südlichen Breiten des Staates Indiana imstande sind, im Frühjahr befruchtete Eier zu legen, und daß somit dort zwei Bruten im Jahre, wenn auch nicht alljährlich, vorkommen (vgl. auch Smith, 1890).

Diese vereinzelten Beobachtungen früherer Autoren, besonders in USA., lassen mit großer Wahrscheinlichkeit vermuten, daß *Phytonomus punctatus* nicht nur in Deutschland, sondern auch in seinem übrigen ständigen Verbreitungsgebiet zwei Eiablageperioden innerhalb Jahresfrist besitzt. Ob die Verhältnisse dabei immer so verwickelt liegen, wie sie im Abschnitt „Überwinterung und Generationsfolge" dargelegt wurden, läßt sich auf Grund der wenigen Daten nicht mit Sicherheit sagen. Es bestände für Gebiete mit anderen Klimaten — vor allem mit milden Wintern — durchaus die Möglichkeit, daß nur die winterbrütige Serie vorkommt und von ihr ein namhafter Prozentsatz die kalte Jahreszeit überdauert und im Frühjahr die Eiablage wieder aufnimmt. Theoretisch ist aber auch denkbar, daß der Käfer in der Hauptsache als Sommerbrüter lebt, und daß ein Teil der im Hochsommer schlüpfenden Jungtiere noch vor Eintritt des Winters mit der Fortpflanzung beginnt. Die aus dieser Lebensweise sich ergebende starke Eiablage im Frühjahr wäre aber der Beobachtung wahrscheinlich nicht entgangen, und das Einsetzen der Eiablage im Herbst bei Nachkommen aus der Sommerbrut ist nach den vorliegenden Untersuchungen sehr unwahrscheinlich, da, wie wir sahen, selbst unter Laboratoriumsbedingungen ein durchschnittlich viermonatiger Reifungsfraß notwendig ist.

Für die Provinz Schleswig-Holstein habe ich mir über den Zeitpunkt und die Dauer der Eiablage in erster Linie dadurch Klarheit zu schaffen versucht, daß ich fast 2 Jahre lang in regelmäßigen Zeitabständen stehende und liegende Kleestoppeln oder auch hohle Stengel von Gräsern und Unkräutern sowie Strohteile von älteren Kleeschlägen eintrug und auf Eier untersuchte. Das Ergebnis ist in Abb. 7 niedergelegt. Da ein Teil der im Herbst abgelegten Eier überwintert und erst im Frühjahr die jungen Larven entläßt, ist das Ende der Eiablage im Herbst nicht ohne weiteres festzustellen. Ein gewisser Anhaltspunkt ergibt sich aber aus der Farbe der Eier und aus dem Reifezustand der Embryonen. Tower und Fenton (1920) geben zwar an, daß die im Spätherbst abgelegten und nicht mehr zum Schlüpfen kommenden Eier ihre hellgelbe Farbe auch über Winter und bis zum Frühjahr beibehalten, und daß sie dann erst mit Einsetzen der Embryonalentwicklung dunkel werden. Zum mindesten trifft dies nur für einen Teil der Gelege zu. So fand ich im Januar und Februar hellgelbe, also wenig oder kaum in der Entwicklung vorgeschrittene Eier, daneben aber besonders im Februar auch mittelbraune bzw. schon dunkelbraune Eier, die nahezu schlüpfreif waren. Im April und im Mai waren dann wieder zahlreiche Gelege vorhanden, und zwar sowohl solche mit ganz hellen als auch mit dunklen Eiern und nahezu schlüpfreifen Embryonen. Hieraus ging schon fast mit Sicherheit hervor, daß im Frühjahr, und zwar besonders im April und Mai, eine erneute Eiablage stattfindet. Einen letzten, schlüssigen Beweis dafür ergab aber die Untersuchung und Zucht der im Frühjahr, besonders im April und Mai eingetragenen Käfer. Die Mehrzahl dieser Tiere enthielt voll entwickelte Ovarien mit allen Stadien reifender oder auch legereife Eier. Am 1. April eingetragene Tiere begannen schon nach 2 Tagen mit der regelmäßigen Eiablage, die sogar bis zum 7. Juni fortgeführt wurde. Auch später im April oder im Mai eingetragene Tiere enthielten bei der Präparation entweder reife Eier oder sie begannen in der Zucht alsbald mit der Ablage. Erst im Mai wurden in zunehmendem Maße auch Exemplare gefunden, deren Ovarien schon eingeschrumpft waren oder die in der Zucht nicht mehr zur Eiablage kamen. Aus diesen Untersuchungen konnte dann mit Sicherheit

geschlossen werden, daß *Phytonomus punctatus* unter deutschen Verhältnissen überwintert und im Frühjahr erneut zur Eiablage schreitet. Die Feststellung schließlich, daß der Reifungsfraß durchschnittlich 4 Monate dauert, führte zu der Folgerung, daß zwei Serien von Käfern nebeneinander bestehen, von denen nur die eine, und zwar unreif, überwintert, um erst im Frühjahr mit der Fortpflanzung zu beginnen.

Die Dauer der Eiablage wird von Tower und Fenton (1920), die ihre Beobachtungen im Staate Indiana anstellten, mit 64—68 Tagen angegeben. Diese Autoren betonen ausdrücklich, daß sie im Herbst erfolgt, und zwar hauptsächlich in den Monaten September, Oktober und November. Diese Angabe deckt sich mit den eigenen Beobachtungen, soweit sie sich auf die winterbrütige Serie beziehen. Im Laboratorium legten die Käfer aber häufiger den ganzen Winter hindurch und bis weit in den März hinein. Die sommerbrütige Gruppe ist im Staate Indiana aber entweder nicht vorhanden oder dort übersehen worden. Die Dauer der Eiablage dieser Serie erstreckt sich in Deutschland (Schleswig-Holstein), wenn man von den vereinzelten Vor- und Nachläufern absieht, im wesentlichen auf die Monate April und Mai, dauert also gut 2 Monate. Dieser Zeitraum bezieht sich auf die gesamte Population; das einzelne Weibchen legt dagegen in der Regel nur etwa 4—6 Wochen, im Laboratorium nicht selten auch erheblich länger.

4. Lebensdauer.

Die Lebensdauer von *Phytonomus punctatus* unter Freilandverhältnissen ist ohne Zuchten, die unter möglichst natürlichen Außenbedingungen durchgeführt wurden, nicht leicht festzustellen, da die Art in zwei Serien auftritt und im April und Mai sowohl Käfer anzutreffen sind, die als Imagines überwintert haben, wie auch solche, die erst im Frühjahr schlüpften (vgl. Abb. 7). Auch von Juli an laufen dann beide Gruppen wieder nebeneinander her, und es läßt sich besonders im Juli und August ohne Zuhilfenahme der Zucht nicht entscheiden, ob die Tiere zur winterbrütigen Serie gehören, die noch vor Winter stirbt, oder zur anderen, die den Winter überdauert, um erst im Frühjahr mit der Eiablage zu beginnen. Diese Tiere sterben unter Freilandverhältnissen erst im Laufe des Mai oder Juni des nächsten Jahres. Ein erheblicher Prozentsatz der im Herbst brütenden Käfer scheint, aus der Anzahl der im Februar und Anfang März gefundenen legereifen Tiere zu schließen, eine nochmalige Fortpflanzung im Frühjahr nicht mehr zu erleben. Die Lebensdauer dieser winterbrütigen Serie dürfte danach nur etwa 6—7 Monate betragen. Wesentlich langlebiger sind dagegen die Käfer, die zu der sommerbrütigen Gruppe gehören. Sie erscheinen ab Anfang Juli und leben in der Mehrzahl bis Ende Mai, einzelne auch noch bis in den Juni hinein. Ihre Lebensdauer beträgt also fast 11 Monate.

Erwähnenswert ist, daß in der Laboratoriumszucht einzelne Käfer eine noch weit längere Lebensdauer aufweisen als im Freilande. Im extremsten Falle konnte ein isoliertes Weibchen zweimal überwintert werden, und ein Männchen lebte vom 16. Jan. 1939 bis 22. Jan. 1941, also über 2 Jahre.

C. Embryonalentwicklung.

Der Vorgang der Embryonalentwicklung ist nur auf seine äußerlich sichtbaren Merkmale hin untersucht worden.

Die zunächst glänzenden, mattgelben Eier werden nach einigen Tagen trübe und stumpf, und in der Dottermasse geht eine sichtbare Verlagerung vor sich. Mit

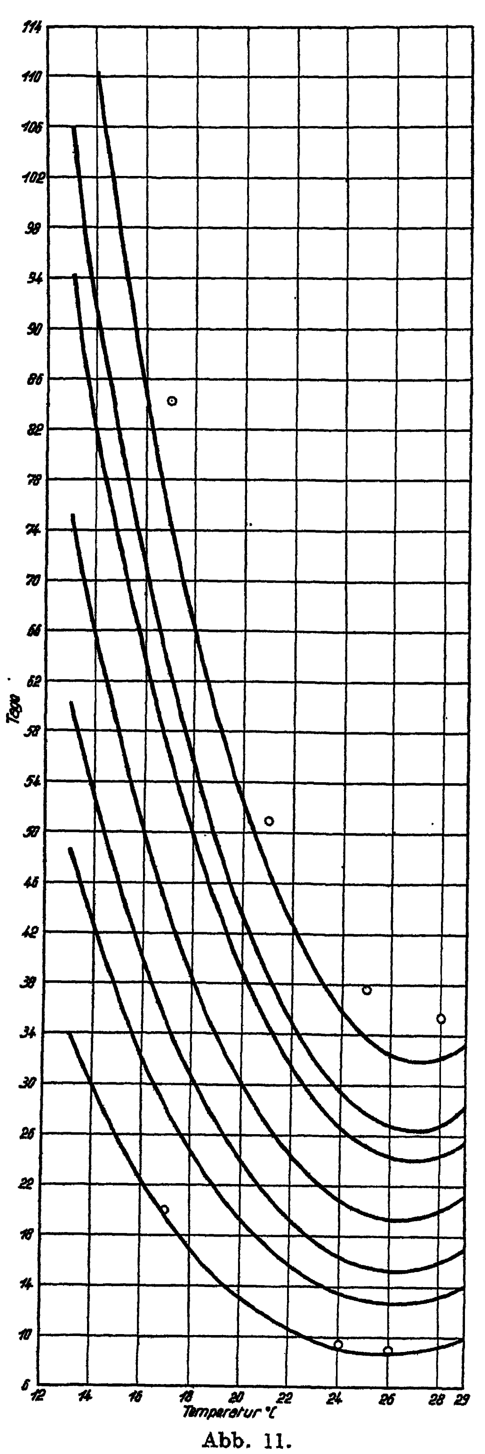


Abb. 11.

zunehmender Entwicklung des Embryos werden dann die Eier, an den Polen beginnend, allmählich schmutzig graugrün bis schwärzlich, lassen aber trotzdem den Inhalt noch erkennen. Die Eihüllen werden schon in diesem Stadium mehr und mehr häutig spröde und runzelig. Der heranreifende Embryo ist am ehesten durch die beginnende Pigmentierung der Augen und Mundwerkzeuge, bald auch der ganzen Kopfkapsel zu erkennen, die deutlich schwarzbraun durchscheint. Kurz vor dem Schlüpfen der Larve kann man auch Bewegungen der Mundwerkzeuge, des Kopfes oder des ganzen Körpers erkennen.

Die Dauer der Embryonalentwicklung steht in direkter Abhängigkeit von der Temperatur und Feuchtigkeit der Umgebung, in erster Linie aber von der Temperatur. Dabei ist es ganz gleichgültig, zu welcher Jahreszeit und von welcher Käferserie die Eier abgelegt sind. Diejenigen, die im Freilande den Winter überdauern, machen also keine Diapause durch, sondern schreiten lediglich infolge der zu tiefen Temperaturen in der Entwicklung nicht oder nur langsam voran. Von dieser Tatsache kann man sich leicht überzeugen, wenn man Eier aus dem Freilande in den Wintermonaten einträgt. Ihre Entwicklung geht im Laboratorium sofort weiter und sie ergeben nach kurzer Zeit normal schlüpfende Larven.

In bezug auf die Embryonalentwicklung zeigt sich also zwischen dem sommerbrütigen Luzerneblattnager und dem wechselbrütigen Kleeblattkäfer kein grundsätzlicher Unterschied. Im einzelnen können die Werte für die Embryonalentwicklung von *Phytonomus punctatus* bei konstanten Temperaturen und optimaler Feuchtigkeit aus Abb. 11 entnommen werden. Interessant ist das Mortalitätsdiagramm der Eier des wechselbrütigen *Phytonomus punctatus*, besonders wenn man es, wie dies in Abb. 12 ge-

Abb. 11. Entwicklungsdauer der physiologisch besten Tiere von *Phyt. punctatus* bis zu den Abschnitten: Schlüpfen der Junglarve, Häutungen der Larven I—III, Beginn des Spinnens (Übergang zur Präpuppe), Verpuppung und Schlüpfen der Imago (Gesamtentwicklung). oo Tatsächlich erzielte Ergebnisse der Gesamtentwicklung.

schehen ist, mit dem Diagramm des sommerbrütigen Gattungsgenossen *Phytonomus variabilis* in Vergleich setzt. Während die verschiedenen Sterblichkeitszonen bei der Art *variabilis* horizontal gelagert sind und einen sehr großen Temperatur- und Feuchtigkeitsbereich umfassen, zeigen sie bei *punctatus* eine mehr vertikale Anordnung und optimale Verhältnisse in einem relativ niedrigen

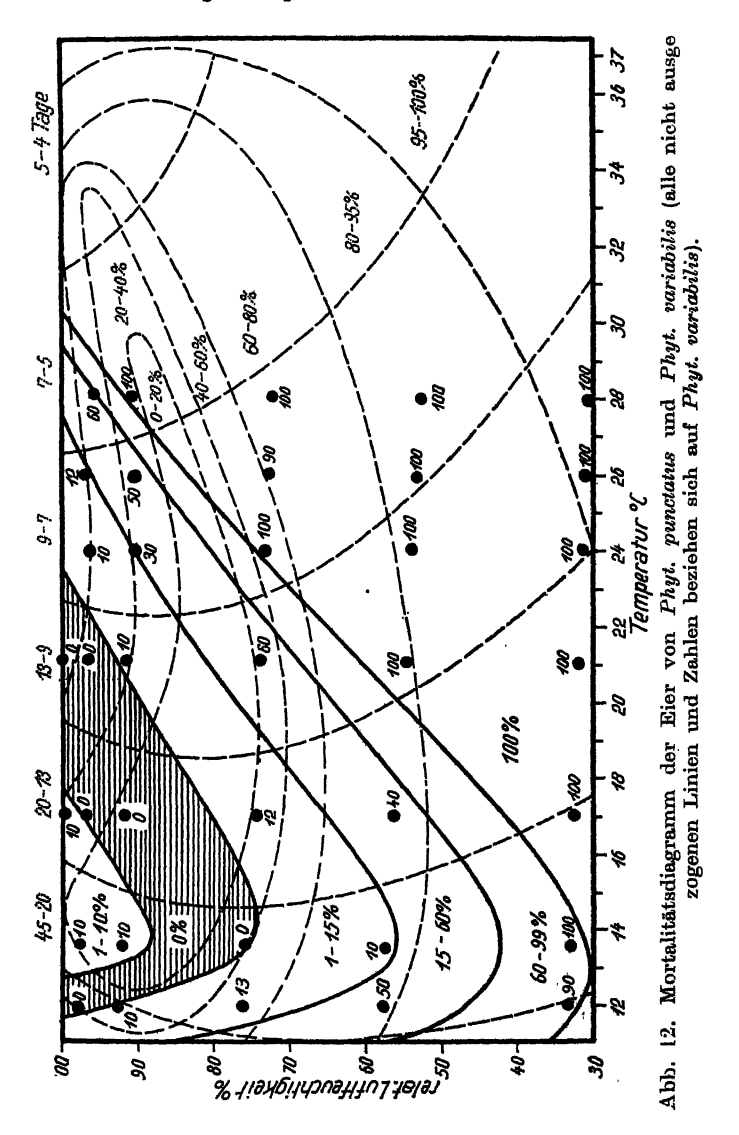


Abb. 12. Mortalitätsdiagramm der Eier von *Phyt. punctatus* und *Phyt. variabilis* (alle nicht ausgezogenen Linien und Zahlen beziehen sich auf *Phyt. variabilis*).

Temperaturbereich etwa zwischen 12° und 14°. Die Zone ohne Sterblichkeit stellt auffallenderweise auch nicht der „Kern" dieses Diagramms dar, sondern das erste breite Band, das sich um diesen legt. Daß es sich hierbei nicht um ein Zufallsergebnis handelt, ergibt sich aus dem Mortalitätsdiagramm für die übrigen Entwicklungsstadien (siehe Abb. 13), wo die Zone geringster Sterblichkeit eine ringförmige Gestalt hat. Dieser allen bisherigen Erfah-

rungen entgegenstehende Befund folgt vielleicht aus der Tatsache, daß wir es bei *Phytonomus punctatus* mit einem der seltenen Fälle zu tun haben, wo innerhalb der Art eine sommerbrütige und eine winterbrütige Serie unabhängig nebeneinander herlaufen, die Art als solche damit aber als wechselbrütig in Erscheinung tritt.

D. Die Larve.

1. Schlüpfvorgang und Aufsuchen der Nahrung.

Das Schlüpfen der jungen Larve von *Phytonomus punctatus* aus den Eihäuten geht offenbar in gleicher Weise vor sich wie bei seinem Gattungsgenossen, dem Luzerneblattnager.

Die Eihäute platzen oder reißen infolge der kräftigen Bewegungen der jungen Larve, und nicht selten helfen dabei die Mandibeln mit. Nur bei zu geringer Luftfeuchtigkeit gelingt den Tieren die Sprengung der Eihäute nicht, und sie sterben schließlich nach tage- oder gar wochenlangen Bemühungen. Aus der eingerissenen Eihülle kommen bei genügend hohen Temperaturen die jungen Larven alsbald heraus, um sich auf die Suche nach Nahrung zu begeben. Es scheint vorzukommen, daß auch im Winter Larven schlüpfen, denn ich fand in hohlen Kleestengeln erste Stadien auch im Januar und Februar. Möglich ist natürlich auch, daß diese Tiere im November oder Dezember geschlüpft sind und sich nachträglich bei einbrechender Kälte wieder in den Stoppeln verkrochen haben.

Da die weit überwiegende Mehrzahl der Eier in hohle, abgestorbene Stengel von Klee und Luzerne abgelegt wird, sind die Junglarven des Kleeblattkäfers im Gegensatz zu denjenigen des Luzerneblattnagers gezwungen, eine kleine Wanderung zu ihren Nahrungsplätzen anzutreten. Die abgeschnittenen Stoppeln werden aus der oberen Öffnung verlassen. Ist diese versperrt oder nicht vorhanden, so verlassen die Larven ihre Geburtsstätte durch die Öffnung, die das Muttertier bei der Eiablage hergestellt hat. Da, soweit bisher bekannt, nur auf dem Klee- oder Luzerneschlage Eier abgelegt werden, so fällt es den Larven nicht eben schwer, in kurzer Zeit ihre Nahrung zu finden. Für alle Fälle hat die Natur aber auch hier vorgesorgt, indem die frisch geschlüpften Larven selbst bei höheren Temperaturen eine Reihe von Tagen hungern können. Im Laboratorium starben 10 Larven nach durchschnittlich 8—9 Tagen. In feuchten Schalen liefen die Tiere aber erheblich lebhafter und auch länger umher als in trockenen.

2. Wirtspflanzen.

Die Wirtspflanzen der Käfer und Larven des Kleeblattkäfers sind, streng genommen, nur die Nährpflanzen dieser Stadien, nicht aber zugleich die Brutpflanzen dieser Art, da die Weibchen ihre Eier zur Hauptsache in abgestorbene Pflanzenstengel ablegen und diese nicht mehr im festen Zusammenhang mit der lebenden Pflanze zu stehen brauchen. Ja, es kann sich hierbei sogar um Reste von Pflanzen handeln (z. B. Gräser, Strohteile), die zu keiner Zeit als Nahrung angenommen werden. Nach meinen Beobachtungen decken sich die Wirts- bzw. Nährpflanzen des Käfers und seiner Larve weitgehend, so daß es genügt, sie nur einmal an dieser Stelle zu besprechen. Die wichtigste Wirtspflanze von *Phytonomus punctatus* ist offenbar in seinem ganzen Verbreitungsgebiet der Rotklee (*Trifolium pratense* L.), daneben Luzerne [Webster (1917), Tower und Fenton (1920) u. a.]. Nur gelegentlich sollen andere Kleearten, wie z. B. der Weißklee (*Trifolium repens* L.) vorgezogen werden [Webster, nach Tower und Fenton (1920)]. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß derartige Beobachtungen darauf zurückzuführen sind, daß nach Umbruch eines stärker befallenen Rotkleeschlages die Tiere in Ermangelung von anderem Rotklee sich mit einem in der Nähe befindlichen Weißkleefeld begnügt haben. Aber auch bei Vorhandensein von Rotkleefeldern werden andere Klee- und Luzernearten freiwillig von den Käfern aufgesucht, wie z. B. *Trifolium incarnatum*, *hybridum* und *Meli-*

lotus albus [F o l s o m (1909), T o w e r und F e n t o n (1920)]. Dabei spielt das Alter der Schläge vielleicht eine wichtige Rolle, da der Käfer junge Bestände, in denen sich noch keine abgestorbenen und für die Eiablage geeigneten Stoppeln befinden, zunächst zu meiden scheint. Neben dem Rotklee und anderen Kleearten wird aber vor allem die Luzerne von *Phytonomus punctatus* gern befallen. Viele der amerikanischen Autoren, die Untersuchungen über den Luzerneblattnager angestellt haben, berichten immer wieder, daß *Phytonomus punctatus* ein häufiger Gast auf der Luzerne ist und auch schon vielfach zu Verwechselungen mit *Phytonomus variabilis* Anlaß gegeben hat, da die Larven sich bei oberflächlicher Betrachtung sehr ähnlich sehen. Nach T o w e r und F e n t o n (1920) sind die Käfer auch an Getreide, Lieschgras (*Phleum*), Klette (*Lappa*), Sojabohne (*Glycine*) und Goldraute (*Solidago Virga aurea* L.) und nach K l e i n e (1910) auch an Tupinambur (*Helianthus tuberosus* L.) beobachtet worden, an Bohnen sogar Larven und Käfer. Eigene Fütterungsversuche mit diesen Pflanzenarten sind aber in jedem Falle fehlgeschlagen, so daß angenommen werden darf, daß hier früher Verwechselungen mit anderen Käferarten vorgekommen sind.

Bei vergleichenden Fütterungsversuchen mit Käfern hielten Klee und Luzerne sich ungefähr die Waage. Etwas weniger gern wurden Gelbklee, Bockharaklee und Schwedenklee angenommen, wenn den Tieren gleichzeitig Luzerne als Futter zur Verfügung stand, während Esparsette selbst dann vollständig verweigert wurde, wenn die Käfer ohne andere Nahrung blieben.

3. L e b e n s g e w o h n h e i t e n u n d F r a ß b i l d.

An anderer Stelle wurde schon erwähnt, daß sowohl der Käfer wie auch die Larven von *Phytonomus punctatus* ihre Haupttätigkeit nachts entfalten. Am Tage sind deshalb die Larven am grünen Blattwerk der Pflanzen verhältnismäßig selten anzutreffen und zu dieser Zeit mit dem Fangnetz auch nur in geringer Anzahl zu erbeuten. Die Mehrzahl von ihnen, vor allem die älteren Stadien, ruhen am Tage eingerollt unter der Bodenspreu, in der Ackerkrume, zwischen den Stoppeln und Stengeln der Pflanzen und nicht selten im lockeren Boden selbst, mit einer dünnen Erdschicht bedeckt.

Die kleinen Larven sitzen mit Vorliebe tief unten im Herz der Pflanze zwischen den noch gefalteten Blättchen versteckt, gelegentlich auch hinter den Blattscheiden, oder sie verkriechen sich in hohlen Stengeln. Ein Teil von ihnen sucht aber ebenfalls die Bodendecke auf, und in jedem Falle sind sie nur mit Mühe zu finden. Zur Nahrungsaufnahme begeben sich die Larven I und II fast immer an die zarten, noch nicht entfalteten Blätter und fressen hier ganz ähnlich wie die Larven von *Phytonomus variabilis* kleine Löcher in die Blattfläche. Die Hauptader wird dabei verschont, desgleichen der Vegetationspunkt der Pflanze. Durch das Aufsuchen dieser Verstecke können die kleinen, fußlosen Larven sich zunächst besser an der Pflanze festhalten, indem sie sich zwischen die Pflanzenteile einklemmen. Außerdem stehen ihnen hier die zartesten Gewebe zur Verfügung und schließlich finden sie an solchen Stellen nicht nur eine Atmosphäre erhöhter Feuchtigkeit vor, sondern auch Schutz vor den Unbilden der Witterung.

Die älteren Larvenstadien des Kleeblattkäfers leben erheblich robuster und gleichen auch hierin dem Luzerneblattnager. Die Tiere können sich gut an den Stengeln und Blättern halten und fressen auch in erster Linie die schon entfalteten Blätter. Während aber die Larven III und IV des Luzerneblattnagers in der Regel unter Schonung des Blattrandes streifenartige Löcher

zwischen den Adern in die Blätter fressen (siehe Abb. 9), greifen die Larven von *Phytonomus punctatus* die Blätter in der Regel vom Rande her an und verschonen dabei nur die Hauptader oder sie fressen große unregelmäßige Löcher in die Fläche (vgl. auch das Käferfraßbild Abb. 8).

Beim Klettern an der Pflanze wie auch beim Kriechen auf dem Boden werden die Mundwerkzeuge ständig mit zu Hilfe genommen. Mit ihnen sucht die Larve zunächst einen Halt bei vorgestrecktem Körper. Dann wird die Mitte des Hinterleibes nach vorn gezogen und an die Unterlage gepreßt. Dabei dienen an jedem Segment befindliche, mit Borsten versehene Hautwülste zum Anklammern. Schließlich wird auch das Hinterleibsende gelöst und nachgezogen. Am letzten Segment befinden sich besonders große Hautwülste, die sich greiferartig an der Unterlage festhalten. Erst wenn das Hinterleibsende sich fest verankert hat, werden der Kopf und die Brust von der Unterlage wieder gelöst und der Rhythmus der Kriechbewegungen beginnt von neuem.

Erschütterungen der Pflanzen oder der Unterlage beunruhigen die Tiere im allgemeinen nur wenig. Bei Berührung rollen die Larven aller Stadien sich jedoch in einer Ebene so eng ein, daß der Kopf fast nicht mehr sichtbar ist. In dieser Stellung verharren die Tiere dann nicht nur minuten-, sondern oft stundenlang. Nur bei stärkerem Druck oder anderweitiger empfindlicher Störung streckt sich der Körper ruckartig, um sofort die alte Haltung wieder einzunehmen. Dies ist die einzige Gelegenheit, wo die Larven rasche und plötzliche Bewegungen ausführen. Im übrigen sind sie wie die Volltiere selbst bei hohen Temperaturen äußerst langsam und träge.

4. Häutung und Anzahl der Stadien.

Die Häutung der Larven geht verhältnismäßig rasch sowohl an den Pflanzen wie auch während der Ruhe auf dem Boden vor sich in genau derselben Weise wie bei *Phytonomus variabilis.* Durch den Druck der Körpersäfte platzt die alte Kopfkapsel an den vorgebildeten hellen Nahtstellen im Nacken und auf der Stirn. Die Risse werden erweitert und aus der Öffnung preßt sich der Kopf der Larve hervor. Dabei wird die alte Kopfkapsel nach unten gedrückt und auf die Ventralseite geschoben. Durch rhythmische Bewegungen preßt sich dann die Larve nach vorne aus der alten Haut, die auch auf der Dorsalseite in der Regel noch aufreißt. Die Exhuvie wird mehr und mehr zusammengedrückt und bleibt schließlich an der Pflanze haften oder fällt zu Boden.

Die frisch gehäutete Larve besitzt nur sehr schwache Pigmentierung. Selbst die Kopfkapsel ist zunächst hell weißlich grün, dunkelt dann aber, mit den stärker chitinisierten Teilen beginnend, schnell nach. Noch ehe die Ausfärbung ganz vollendet ist, beginnt sie schon wieder mit der Nahrungsaufnahme.

Bei vielen hundert in Einzelzuchten gehaltenen Larven wurden immer wieder vier Stadien festgestellt. Trotzdem die Larven von *Phytonomus punctatus* ganz beträchtlich größer sind als diejenigen von *Phytonomus variabilis*, haben also beide Arten die gleiche Anzahl von Larvenstadien. Die Größenunterschiede zwischen den erwachsenen Larven von *Phytonomus nigrirostris* und *trilineatus* einerseits und *variabilis* andererseits sind bei weitem nicht so groß. Trotzdem haben die beiden erstgenannten Arten aber immer nur drei Larvenstadien.

5. Entwicklungsdauer.

Wie zu erwarten, ist die Entwicklungsdauer der Larven des Kleeblattkäfers in erster Linie von Temperatur und Feuchtigkeit abhängig. Sie verläuft daher verhältnismäßig rasch bei der Serie, die aus den im Frühjahr abgelegten Eiern hervorgeht. Die im Herbst geschlüpften Larven erreichen

dagegen in keinem Falle noch im gleichen Jahre ihre Verpuppungsreife, sondern überwintern auf dem Felde je nach der Erscheinungszeit seltener im Stadium I, häufiger schon als Larve II, in der Mehrzahl aber im dritten und vierten Stadium. Die Entwicklungsdauer bei verschiedenen konstanten Temperaturen und optimalen Feuchtigkeiten ist aus der Abb. 11 zu ersehen. Das Mortalitätsdiagramm für die Larven wird in Abb. 13 gegeben. Es zeigt die schon auf Seite 103 erwähnte eigenartige Anordnung, indem nicht das Zentrum, sondern eine ringförmige Zone dem Bereich geringster Sterblichkeit entspricht. Dieses Diagramm erfährt auch dann im wesentlichen keine Änderung, wenn man die Präpuppe und Puppe noch einbezieht.

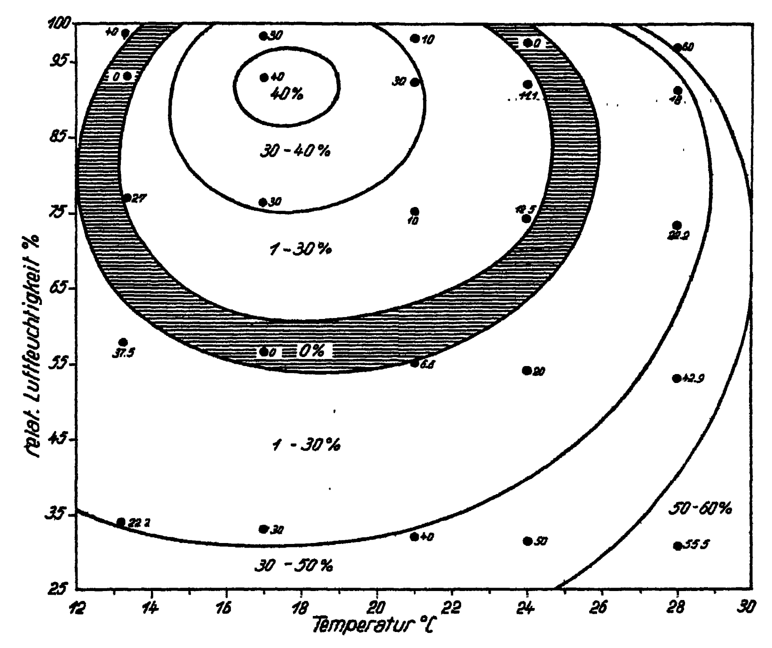


Abb. 13. Mortalitätsdiagramm der Larven von *Phyt. punctatus.*

6. Das Gespinst und seine Herstellung.

Die erwachsene Larve verläßt die Wirtspflanze, um ein Gespinst herzustellen, in dem sie sich verpuppt. Während die Larve von *Phytonomus variabilis* höchstens das lockere auf der Oberfläche liegende Genist aufsucht, um ihren Kokon daran anzuheften und soweit wie möglich zu verbergen, diese Tiere sich aber im übrigen in der Regel an den Pflanzenteilen über der Erde bis zu einer Höhe von etwa 10 cm einspinnen, findet man die Gespinste von *Phytonomus punctatus* nur höchst selten über der Erdoberfläche zwischen Stengeln und Stoppelresten. Meistens suchen die Tiere die Ackerkrume selber auf und spinnen sich hier unter der Spreu oder einige (bis vier) Zentimeter tief in der Erde ein. Wohl aus diesem Grunde ist der Kokon des Kleeblattkäfers nicht nur wesentlich fester und in den Strängen gröber, sondern auch bedeutend engmaschiger (vgl. Abb. 14 u. 15). Den Spinnvorgang kann man in der Zucht beobachten. Zuerst werden nach allen Seiten kreuz und quer einzelne lockere gelblich-weiße Fäden gesponnen, die an-

einander kleben, bald erhärten und dabei nachdunkeln. Dann werden immer neue Fäden gezogen, so daß sich die Maschen allmählich weiter verengen. Nachdem das Gespinst im groben fertig ist, werden die inneren Stränge verdickt und geglättet und dort neue Verbindungen hergestellt, wo die Maschen noch zu groß geblieben sind. Auf diese Weise entsteht schließlich ein im Längsschnitt stumpf elliptischer, im Querschnitt runder, siebartig mit mehr oder weniger runden Löchern versehener äußerst zäher und stabiler Kokon, der verhältnismäßig geräumig ist. Die durchschnittliche Länge beträgt 9—10 mm, die größte Breite im Mittel 6,5—7 mm. Es läßt sich unschwer feststellen, daß die Larven beim Spinnen in regelmäßigen Zeitabständen mit den Mundwerkzeugen zur Afteröffnung reichen, um hier Flüssigkeitstropfen zu entnehmen. Daraus darf man schließen, daß zum mindesten die Hauptmasse des Spinnsekretes aus den Malpighischen Gefäßen stammt [Näheres darüber siehe Tower und Fenton (1920)].

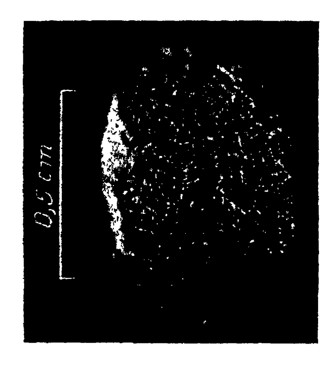


Abb. 14.
Puppenkokon von *Phyt. punctatus.*

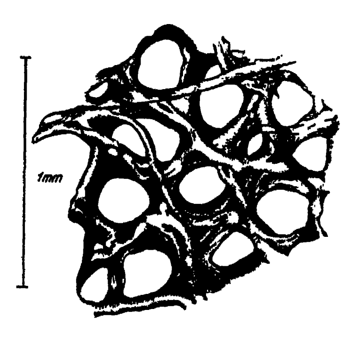


Abb. 15.
Ausschnitt aus einem Puppenkokon von *Phyt. punctatus.*

Steht den Larven nur eine verhältnismäßig glatte Unterlage und kein Gegenstand zum Anheften seitlich oder oberhalb des Körpers zur Verfügung, so gelingt ihnen die Herstellung des Kokons in der Regel nicht. Sie spinnen zwar auch in diesem Falle ständig weiter, verteilen dabei aber die Spinnmasse lediglich in ihrer Umgebung als unregelmäßige Tröpfchen und Fäden. Zu gegebener Zeit geht dann aber auch bei diesen Tieren die Verwandlung in die Vorpuppe und später in die Puppe vor sich.

Die Herstellung des Gespinstes dauert je nach der Temperatur nur wenige Stunden oder auch mehrere Tage.

E. Die Vorpuppe.

Nach der Herstellung des Gespinstes, bei der die Larve verhältnismäßig viel Temperament entwickelt, setzt die innere Umwandlung zur Puppe und damit das Vorpuppenstadium ein. Das Tier ruht während dieser Zeit fast bewegungslos und reagiert selbst auf stärkere äußere Reize nur schwach. Kopf und Hinterende sind ein wenig einwärts gebogen und die Brustsegmente schwellen mehr und mehr an (Abb. 4). Sie verlieren auch zuerst ihre grüne Farbe und werden glasig und schmutzig gelbgrün. Auch der Hinterleib nimmt mit der Zeit eine schmutzig grüne Farbe an, und der helle, dunkel eingefaßte Rückenstreifen wird trüber und verwischter. Je näher der Zeit-

punkt der Verpuppung herannaht, um so glasiger, heller und aufgetriebener erscheinen besonders die Brustsegmente, während der Kopf schließlich nur noch wie ein glanzloses totes Anhängsel wirkt.

Auch das Vorpuppenstadium ist in seiner Dauer in erster Linie von der Höhe der Temperatur abhängig. Die Zeiträume ergeben sich im einzelnen aus der Abb. 11.

F. Das Puppenstadium.

Die äußere Gestalt und die Färbung der Puppe wurde bereits im Abschnitt III D beschrieben. Da sie nicht unerheblich kürzer ist als die erwachsene Larve, so hat sie im Gespinst reichlich Platz. Der Hinterleib kann lebhaft und ruckartig bewegt werden. Mit fortschreitender Entwicklung färben sich zunächst Augen, Mundwerkzeuge und Tarsen rötlich braun, bald auch der Rüssel, die Gelenke von Schienen und Schenkeln und schließlich diese selbst. Die Farbe des ganzen Körpers wird zu gleicher Zeit zunehmend dunkler und olivgrün. Der Beginn des Schlüpfprozesses des Käfers kündigt sich dadurch an, daß der Kopf leichte Bewegungen ausführt und die Extremitäten sich vom Körper abzuheben beginnen. Über die Dauer der Puppenruhe siehe Abb. 11.

V. Epidemiologie.

A. Massenwechsel.

Über den Massenwechsel von *Phytonomus punctatus* in Deutschland ist bisher noch nichts bekannt.

Auch aus anderen Ländern, z. B. Italien und den Vereinigten Staaten, weiß man eigentlich nur, daß der Schädling im allgemeinen nur in verhältnismäßig großen Zeitabständen wirklich schwer schädigend aufgetreten ist. Welche Mengen von Larven dabei auf den Kleefeldern vorhanden sein können, ergibt sich u. a. aus einem Bericht von Jaques (1921). Er gibt an, daß auf einen Fuß Länge zwischen den Reihen des Kleeschlages 108 meist erwachsene Larven angetroffen werden konnten (vgl. auch S. 113).

Der wesentlichste Faktor, der den Massenwechsel von *Phytonomus punctatus* in den westlichen Staaten von USA. bestimmt, ist der Pilz *Entomophthora sphaerosperma*, der dort in erstaunlich kurzer Zeit eine starke Massenvermehrung so radikal zum Stillstand bringen kann, daß die Tiere schon bald danach zu den Seltenheiten gehören. Über solche Fälle berichten z. B. Titus (1911) und Tower und Fenton (1920). Die Beobachtungen, die in solchen Fällen über die Wirkungsweise der Pilzepidemie gemacht worden sind, sollen im einzelnen im Abschnitt VI berichtet werden.

Es hat den Anschein, daß in Deutschland der Massenwechsel ganz wesentlich auch durch andere Faktoren bestimmt wird. Jedenfalls ist es mir bisher noch nicht gelungen, infolge Verpilzung abgestorbene Larven zu finden. Das mag aber vielleicht daran liegen, daß ein derartig epidemisches Auftreten, wie es des öfteren in Italien und in den Vereinigten Staaten vorgekommen ist, bei uns nicht eintritt, jedenfalls bisher nie bekannt geworden ist. Wohl sind in manchen Kleeschlägen im engeren Beobachtungsgebiet des Verf.s die Larven des Kleeblattkäfers so zahlreich gewesen, daß man zwar auf einen sehr verborgenen, im übrigen aber doch nicht unwesentlichen Schadfraß schließen muß. Im Vergleich zu den Angaben ausländischer Autoren war die Anzahl der vorhandenen Larven allerdings nur gering. Unter solchen Umständen ist es natürlich auch schwierig, gute Unterlagen für die Ursachen des Massenwechsels unter den bei uns herrschenden ökologischen Bedingungen zu bekommen. Nach allem, was sich bisher feststellen ließ, ist dabei auch die Wirkung der tierischen Parasiten nur sehr gering. Wichtiger für den Massenwechsel dürfte in unserem Klima der direkte Einfluß der Witterung, vor allem des Winters, sein. Während noch die Sommer-

generation im Jahre 1938 relativ sehr stark auftrat, und auch die Nachkommen der Winterserie 1938/39 zunächst noch reichlich vorhanden waren, ist im Laufe des Spätwinters und Frühjahrs 1939 ein merkbarer Rückgang eingetreten. Dieser hat offenbar nicht nur die Brut, sondern auch die überwinternden Käfer erfaßt, denn sowohl die Frühjahrs- wie auch die Herbstserie des Jahres 1939 trat wesentlich schwächer in Erscheinung als im Jahre zuvor. Im September und Oktober 1939, wo nicht nur Käfer, sondern auch Eier und jüngere Larvenstadien zahlreich hätten vorhanden sein können, wurden trotz intensiver Nachschau Käfer und Eigelege nur selten und Larven kaum noch gefunden.

B. Geographische Verbreitung.

Die Art *Phytonomus punctatus* wurde zuerst für Schweden von Fabricius im Jahre 1775 beschrieben. Nach Titus (1911) ist sie über ganz Europa und Nordasien verbreitet und kommt wahrscheinlich ebenfalls häufig in Zentralasien und China vor, während in Kleinasien und an der Nordküste von Afrika, soweit bekannt, der Kleeblattkäfer seltener ist. In USA. und im südlichen Canada, wohin er von Europa aus eingeschleppt wurde, ist *Phytonomus punctatus* heute stark verbreitet. Nach Tower und Fenton (1920) tritt er in USA. in 19 Staaten auf.

VI. Parasiten und räuberische Feinde.

In den Eiern von *Phytonomus punctatus* entwickelt sich nach Silvestri (1915) in Frankreich und Italien *Anaphoidea luna* Girault (1914). Mir gelang es ebenfalls, diese Wespe im Herbst 1938 und 1939 zu ziehen, und zwar jedesmal 2 Wespen aus einem Ei. Der gleiche Parasit kommt auch in den kleineren Eiern von *Phytonomus variabilis* vor, belegt diese aber immer nur mit einem Ei [Kaufmann (1939)].

Ectoparasitisch an den Eiern des Kleeblattkäfers leben die Larven von *Eupelminus excavatus* Dalman. Diese Wespe wurde bisher in Frankreich, Italien, Sizilien [Chamberlin (1924 a, 1924 b)], Großbritannien und Schweden [Dalla Torre (1898)] festgestellt.

Eine gleiche Lebensweise führt *Peridesmia phytonomi* Gahan (1923). Diese Wespe besitzt anscheinend auch die gleiche geographische Verbreitung wie die vorgenannte und ist in Frankreich zugleich der wichtigste Eiparasit von *Phytonomus variabilis* [Chamberlin (1924 b)], bei dem die vorige Art ebenfalls vorkommt.

Nach Riley (1882) fressen auch die Larven des Käfers *Collops quadrimaculatus* Fabr. die Eier von *Phytonomus punctatus*.

Vereinzelt wurden auch vom Verf. Wespenlarven beim Aussaugen von Eiern des Kleeblattkäfers angetroffen. Sie gehörten dem Aussehen nach 2 verschiedenen Arten an. Leider ist die Aufzucht mißglückt.

Bathyplectes (*Canidia*) *tristis* Gravenhorst, nach Dalla Torre (1891) aus Großbritannien und Deutschland bekannt, ist nach Chamberlin (1924 b) ein seltener Larvenparasit von *Phytonomus punctatus* und *Phytonomus variabilis*.

Bathyplectes (*Canidia*) *corvina* Thoms., nach Chamberlin (1924 b) einer der häufigsten Parasiten von *Phytonomus variabilis* in Europa, wurde bisher nur aus dieser Art gezogen. In den Jahren 1938 und 1939 konnte sie jedoch wiederholt auch aus Larven von *Phytonomus punctatus* erhalten wer-

den. Die Wespen verlassen ihren Wirt erst, nachdem dieser sich eingesponnen hat, und verfertigen dann ihrerseits ihren Kokon, in welchem sie überwintern (Abb. 16).

Gelis (Pezomachus) transfuga Förster, die ebenfalls aus Larven von *Phytonomus punctatus* erhalten wurde, ist wahrscheinlich Hyperparasit bei *Bathyplectes corvina. G. transfuga* erhielt ich häufig aus Larven und Puppen von *Phytonomus variabilis*, wo sie wahrscheinlich auch als Hyperparasit auftritt [vgl. Kaufmann (1939)].

Wie Howard (1926) berichtet, wurde auch *Microbracon tenuiceps* Muesb. aus Larven von *Phytonomus punctatus*, vereinzelt auch aus den Larven von *Phytonomus variabilis* gezogen.

Als Außenparasit lebt an den Präpuppen und Puppen des Kleeblattkäfers nach Smith (1930) *Dibrachoides dynastes* Förster. Er erhielt bis zu 13 Wespen aus einem Wirt. Die Wespe ist aus Deutschland [Förster (1841)], Südrußland [Großheim (1913)] sowie Frankreich und Italien [Chamberlin (1924a, 1924b)] vor allem als Parasit von *Phytonomus variabilis* bekannt.

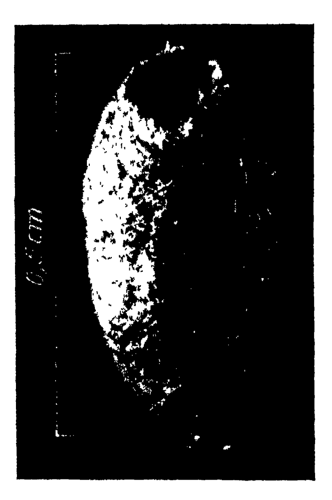


Abb. 16. Kokon von *Bathyplectes corvina* Thoms.

Nach dem von Herrn Hofrat Fulmek, Wien, zusammengestellten, noch unveröffentlichten Parasitenindex, in den ich freundlicherweise Einblick nehmen konnte, ist in Utah (USA.) noch die Chalcidide *Anaphes pratensis* Frst. und die Ichneumonide *Bathyplectes exigua* Grv. im Staate New York aus *Phytonomus punctatus* gezogen worden.

Der wichtigste Parasit von *Phytonomus punctatus* ist nach der Literatur in USA. ganz offenbar der Pilz *Entomophthora sphaerosperma* Fres. Das seuchenhafte Auftreten dieses Pilzes, der aus einer ganzen Reihe von Insekten aus Europa und Amerika bekannt ist, verläuft nach Arthur (1895), Webster (1912), Titus (1911) sowie Tower und Fenton (1920) etwa folgendermaßen: Die Larven werden vor allem im Oktober und November und wiederum im April und im Mai befallen, und der Parasit entwickelt seine stärkste Angriffskraft bei feuchtem, nicht zu kaltem Wetter. Er entwickelt sich im Körper des Wirtes als netzartig verzweigtes Myzel. Einige Zweige durchbrechen die Unterseite und bekommen dadurch als Rhizoiden Berührung mit der Unterlage. Auf der Körperoberseite wird ein grauer, samtartiger Überzug von feinen Fäden gebildet. An den Enden einiger dieser Fäden werden Konidien abgeschnürt und an diesen treten zeitweilig auch Sporen auf, die fortgeschleudert werden und neue Wirte infizieren können. Weitere Sporen entwickeln sich innerhalb des Körpers und können vermutlich auf diese Weise auch den Winter überdauern. Die kranken Larven kriechen nachts soweit wie möglich an den Pflanzen empor, bis sie sich schließlich in horizontaler Lage zusammenrollen. Schon am nächsten Tage soll oft von dem Körper nur noch ein graues Samtpolster und am übernächsten Tage lediglich eine schwärzliche, geschrumpfte Masse übrigbleiben.

Nach Titus ist diese Seuche in den östlichen Staaten von USA. so regelmäßig und verheerend nicht nur bei *Phytonomus punctatus*, sondern auch bei *Phytonomus nigrirostris* aufgetreten, daß in diesen Gebieten kein Grund vorhanden ist, sich wegen des schädlichen Auftretens dieser Käferarten irgendwelche Sorge zu machen.

Wie an anderer Stelle schon erwähnt, wurde diese Seuche im Beobachtungsgebiet des Verf.s bei den Larven von *Phytonomus punctatus* bisher nicht festgestellt.

Als räuberische Feinde werden im Schrifttum eine Reihe von Vogelarten sowie Frösche und Kröten angegeben [Tower und Fenton (1920)].

Über einen besonders interessanten Feind von *Phytonomus punctatus* konnten vom Verf. auf dem Versuchsfeld der Zweigstelle der Biologischen Reichsanstalt in Kitzeberg bei Kiel Beobachtungen gemacht werden. Hier befindet sich auf einem der Wege mit sandig-lehmigem Untergrund eine Kolonie der Grabwespe *Cerceris arenarius* L. Die Wespen schleppten in den letzten Jahren in den Sommermonaten neben anderen größeren Käfern, vor allem aus der Gattung *Othiorrhynchus*, regelmäßig auch Volltiere von *Phytonomus punctatus* in ihre Erdlöcher. Diese sind etwa 15—20 cm tief in den Boden eingegraben und endigen in einer kleinen Höhle. Sie wird je nach Größe der Objekte mit etwa 8—15 Käfern angefüllt und dann ein recht großes Ei hinzugelegt (Abb. 17). Die Käfer sind in der Regel von der Wespe durch einen Stich nur gelähmt und bleiben dann noch längere Zeit am Leben. Von der ausschlüpfenden Larve wird mit Hilfe sehr großer und für diesen Zweck besonders eingerichteter Mundwerkzeuge einer der harten Käfer nach dem anderen kunstgerecht zerlegt und ausgesogen. Die Grabwespenlarven verpuppen sich dann in der Höhlung in einem keulenförmigen braunen Gespinst und die jungen Wespen erscheinen wiederum im nächsten Jahre. An manchen Stellen waren derartige Höhlungen und entsprechend auch die Fluglöcher dicht an dicht, und mancher Kleeblattkäfer, der von den nächstgelegenen Kleefeldern geholt wurde, ist dorthin eingetragen worden.



Abb. 17. Rüsselkäfer mit Ei der Grabwespe *Cerceris arenaria*.

VII. Schadbild und Schadwirkung.

Der durch *Phytonomus punctatus* hervorgerufene Schaden wird in erster Linie durch die älteren Larven, in zweiter Linie erst durch die jüngeren Stadien und die Käfer verursacht. Dementsprechend entstehen auch die stärksten Verluste an Blattmasse zu der Zeit, in der die Larven III und IV massiert auftreten und ihre intensivste Fraßperiode durchmachen. Dies ist in Deutschland vor allem in den Monaten März bis Anfang August der Fall (vgl. Abb. 7). Der Fraß der überwinternden Larven erstreckt sich zwar auf einen verhältnismäßig großen Zeitraum, dafür fehlt der Wirtspflanze Ausgang des Winters aber noch die starke Regenerationskraft, um den entstandenen Verlust wieder auszugleichen. Dies ist während der Haupt-Fraß-

periode der sommerbrütigen Serie im Mai, Juni und Juli zwar anders, dafür fressen aber in dieser verhältnismäßig kurzen Zeit alle Stadien fast gleichzeitig. Die Entstehung und Art des Schadens ergibt sich aus dem Fraßbild der Larven. Zunächst werden in der Hauptsache die jüngsten Blätter vom Rande her befressen, bald darauf aber auch die älteren. Bei Nahrungsmangel werden schließlich auch die Blattrippen, Stiele und Stengel verzehrt.

Der älteste bekannte Fall einer starken Schädigung der Kleefelder durch *Phytonomus punctatus* bezieht sich auf die Lombardei und das Jahr 1868 [nach Titus (1911)]. Der Schaden war so ernst, daß eine Kommission ernannt wurde, die die Ursachen zu untersuchen hatte. Nach dem gleichen Autor ist der Käfer in den Jahren 1879 und 1880 besonders in der Umgebung von Florenz aufgetreten. Auch das Jahr 1883 hat offenbar in Italien wieder eine Massenvermehrung des Schädlings gebracht und 1902—1903 war wiederum das Gebiet um Florenz stark verseucht.

In USA. trat *Phytonomus punctatus* erstmalig epidemisch in den Jahren 1881 und 1882 im Staate New York auf und von diesem Gebiet aus hat der Käfer sich dann nach allen Richtungen von Jahr zu Jahr mehr ausgebreitet [Titus (1911)]. Östlich des Mississippi scheinen die Ausbrüche im allgemeinen immer nur von kurzer Dauer gewesen zu sein, da die Massenvermehrung dort sehr bald von dem Pilz *Empusa sphaerosperma* unterdrückt worden ist [Parks (1914)]. Bisweilen scheint jedoch der Schaden recht beträchtlich gewesen zu sein und zur Vernichtung vieler Schläge geführt zu haben, ehe der Pilz sich voll auswirken konnte. Einen solchen Fall berichtet z. B. Jaques (1921) aus dem Staate Iowa; in vielen Gebieten war sogar der Prozentsatz der durch den Pilz vernichteten Larven nur sehr gering. Pettit (1920) berichtet andererseits aus dem Staate Michigan, daß auf Klee weidendes Rindvieh zu der Zeit, wo die Larven durch die Pilzseuche vernichtet wurden, vielfach ernstlich erkrankte und so lange abgetrieben werden mußte, bis die verpilzten toten Larven zur Erde gefallen waren.

Aus Deutschland ist über ein stärkeres Auftreten des Kleeblattkäfers noch nicht berichtet worden. Ich bin aber der Überzeugung, daß er nicht nur häufig besonders in den älteren Kleeschlägen vorhanden ist, sondern daß er hier auch in manchen Jahren einen Tribut fordert, der ernstlich ins Gewicht fällt. Wir beobachten nur zu oft, daß junge wie alte Kleeschläge im Frühjahr recht kümmerlich aussehen und schließlich umgepflügt werden, ohne uns über die letzten Ursachen volle Klarheit verschaffen zu können. Sollte der Kleeblattkäfer dabei eine wesentliche Rolle mitspielen, so wird er auf Grund seines Schadbildes bei einiger Aufmerksamkeit nicht zu übersehen sein. Ist er dagegen nur eine von verschiedenen Ursachen, so wird es einer gründlichen Untersuchung bedürfen, um seine Gegenwart und das Ausmaß der durch ihn hervorgerufenen Schädigung festzustellen, da der Käfer und seine Larven sich durch ihre nächtliche und versteckte Lebensweise in starkem Maße der Beobachtung entziehen.

VIII. Bekämpfung.

Smith (1890) empfiehlt bei stärkerem Befall, den Klee im Spätherbst mit einer schweren Walze zu befahren, um die Larven abzutöten. Es ist jedoch kaum anzunehmen, daß diese Maßnahme irgendwelchen greifbaren Erfolg haben wird, da die Larven bei Tage zum Teil schon ohnehin in der Ackerkrume liegen. Ein tiefes Umpflügen schwer befallener Schläge im

zeitigen Frühjahr, das ebenfalls von Smith vorgeschlagen wird, dürfte schon eher brauchbar sein. Der Zeitpunkt müßte allerdings nicht zu spät gewählt werden, damit die Mehrzahl der Larven noch nicht ihre Verpuppungsreife erlangt hat. Tower und Fenton (1920) verwerfen das Abbrennen der Kleeschläge, das Walzen, Eggen, Überfluten usw., das gelegentlich vorgeschlagen wurde, versprechen sich aber etwas davon, wenn die einjährigen Schläge im Herbst abgeweidet oder im Frühjahr gemäht werden oder wenn der zweijährige Klee im Herbst sorgfältig untergepflügt wird. Hierin wird vor allem eine gute Vorbeugung einer Massenvermehrung gesehen, da die Notwendigkeit zu Bekämpfungsmaßnahmen in der Regel erst erkannt wird, wenn es schon zu spät ist. Häufig, so betonen allerdings die Verf., wird die Massenvermehrung des Schädlings gerade in dem Augenblick, wo sie ernst zu werden verspricht, durch das seuchenhafte Auftreten des Pilzes *Empusa sphaerosperma* Fres. zum Stillstand gebracht. Oder die Witterungsbedingungen befähigen den Klee, den angerichteten Schaden zu überwachsen.

Jaques (1921), der über schweres Schadauftreten von *Phytonomus punctatus* im Staate Iowa im Jahre 1921 berichtet, teilt mit, daß in einem Falle auch zwei Luzernefelder mit Arsen behandelt wurden, wie es sonst zur Bekämpfung des Luzerneblattnagers üblich ist. Eine Nachprüfung auf dem einen Feld ergab, daß 90% der Larven abgetötet wurden. Im zweiten Falle war das Ergebnis nicht so günstig, da bald nach der Begiftung Regen fiel.

In Deutschland sind bisher noch keine Fälle bekannt geworden, wo ein stärkeres Auftreten des Kleeblattkäfers eine Bekämpfung notwendig gemacht hat. Es fehlen deshalb auch noch Erfahrungen in dieser Richtung. Die wichtigste Maßnahme, um einer Massenvermehrung vorzubeugen, wird die sein, den Klee und die Luzerne nicht überaltern zu lassen.

IX. Ein Vergleich biologischer Daten von Phytonomus punctatus und Phytonomus variabilis.

Phytonomus punctatus und *Phytonomus variabilis* treten nicht selten auf Luzerneschlägen gleichzeitig auf. Da ihre Larven einander in Gestalt und Färbung sehr ähnlich sind und sich auch biologisch in mancher Beziehung fast gleich verhalten, so ist eine Verwechselung für den Unkundigen leicht möglich. Die Gegenüberstellung gewinnt aber noch ein erhöhtes Interesse dadurch, daß es sich zwar um zwei sehr nahe verwandte Arten einer Gattung handelt, beide aber trotzdem in vielen Zügen ganz erstaunlich weit voneinander abweichen. Diese Verschiedenheiten gipfeln darin, daß sich *Phytonomus variabilis* zum typischen Sommerbrüter entwickelt hat, während *Phytonomus punctatus* in eigenartiger Weise als Wechselbrüter in Erscheinung tritt. (Vgl. Tab. 1.)

X. Zusammenfassung.

Der Kleeblattkäfer *Phytonomus punctatus* F. ist trotz seiner ansehnlichen Größe in seiner Heimat Europa nur wenig bekannt, da er ein verborgenes, vorwiegend nächtliches Dasein führt. In Nordamerika, wohin er in der zweiten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts eingeschleppt wurde, und wo er unter dem Namen *Hypera punctatus* geführt wird, hat er besonders in den östlichen Staaten in bestimmten Zeitabständen schon schwere Schäden verursacht. Auch in Italien ist er wiederholt zur Massenvermehrung gekommen.

Phytonomus punctatus ist ein Wechselbrüter, der zwei nicht auseinander hervorgehende Generationen innerhalb Jahresfrist durchläuft. Die Eiablage

Tabelle 1.

Gegenüberstellung wichtiger Daten aus der Biologie von *Phytonomus punctatus* und *Phytonomus variabilis* unter deutschen Verhältnissen.

1. Wichtige Merkmale, in denen beide Arten voneinander abweichen:

Merkmal	*Phytonomus punctatus*	*Phytonomus variabilis*
Haupteiablagezeit	Sept., Okt., April, Mai	Mai, Juni
Ort der Eiablage	tote Klee- und Luzernestoppeln	grüne Stengel von Luzerne u. a. Pflanzen
Hauptlarvenfraßzeit	Okt., Nov. und März bis Juli	Juni, Juli
Verpuppung	in oder auf der Erde	an lebenden oder toten Pflanzenteilen über der Erdoberfläche
Puppenkokon	engmaschig, grobfädig, gelbbraun	weitmaschig, feinfädig, weißgelblich
Puppenruhe	März bis August	Juli, August
Anzahl der jährlichen Generationen	zwei voneinander unabhängige Serien laufen nebeneinander her, von denen die eine herbst-kühlbrütig, die andere sommer-warmbrütig ist	eine
Lebensdauer der Käfer	überwinternde Tiere 10—11, die im Frühjahr schlüpfenden 7—8 Monate	10—11 Monate
Überwinterung	als Käfer, Ei und Larve auf dem Felde	als Käfer auf dem Felde oder im Winterlager
Wichtigste Nährpflanzen	Klee und Luzerne	Luzerne und Wicke
Fraßbild der Altlarven	große Löcher vom Rande her	streifenförmiger Lochfraß vornehmlich in der Blattfläche
Fraßbild des Käfers	große Löcher vom Rande her	Ausfransen der Blattränder
Temperament	sehr schwerfällig, vorwiegend Nachttier	lebhaft, vorwiegend Tagtier
Geschlechterverhältnis	Männchen überwiegend	1 : 1

2. Wichtige Merkmale, die beide Arten gemeinsam haben:

Merkmal	Beschreibung
Anzahl der Eier je Weibchen	über 1500
Anzahl der Larvenstadien	vier
Färbung der Larven	neben grünen kommen rotviolette und gelbe Larven vor
Ausfärbung und Erhärtung des Jungkäfers	im Puppenkokon
Ruhe- und Schreckstellung der Larven	eingerollt
Thanatosestellung des Käfers	Beine gespreizt
Kopulation	lang andauernd und häufig wiederholt

der kühlbrütigen Serie dauert im wesentlichen von Anfang September bis in den November hinein. Neben wenigen Eiern überwintern Larven in allen Stadien, hauptsächlich aber Larven III. Die Verpuppung fällt vornehmlich in die Monate April und Mai und ab Mai erscheinen die Jungkäfer, die eine

rund viermonatige Reifungszeit durchmachen. Die sommerbrütige Serie legt hauptsächlich im April und Mai, ihre Larvenzeit fällt in die Monate April bis Juni, die Verpuppung in den Sommer, und Jungkäfer erscheinen ab Anfang Juli. Diese Tiere überwintern und kommen erst im nächsten Frühjahr zur Fortpflanzung. Die Lebensdauer der Käfer beider Serien ist dementsprechend verschieden. In den Vereinigten Staaten ist bisher nur die herbst- bzw. kühlbrütige Generation festgestellt worden.

Die Männchen scheinen zahlenmäßig zu überwiegen (2 : 1). Die Kopulation findet vorwiegend nachts statt und wird häufig wiederholt.

Die wichtigsten Wirtspflanzen sind Klee und Luzerne. Die Eier werden gruppenweise in erster Linie in hohle, abgestorbene Stengel der Wirtspflanze, von Unkräutern oder auch in Strohhalmstücke gelegt. Im Maximum konnten von einem Weibchen 2270 Eier erzielt werden.

Die Embryonalentwicklung wird beschrieben und deren Abhängigkeit von Temperatur und Feuchtigkeit in einer Kurve und als Mortalitätsdiagramm dargestellt. Die optimale Zone stellt sich auffallenderweise sowohl für die Embryonalentwicklung als auch für die Entwicklung der übrigen vorimaginalen Stadien als ein Band dar, das sich um ein Zentrum mit ungünstigeren Entwicklungsbedingungen legt. Es wird vermutet, daß dies auf die besonders gelagerten Generationsverhältnisse zurückzuführen ist.

Die Morphologie aller Stadien wird besprochen. Die fußlosen Larven durchlaufen vier Stadien. Sie sind grün und besitzen ein breites, weißgelbes, farbig eingefaßtes Band auf dem Rücken. Neben den grünen Larven kommen auch rötlich-violette und gelbe Farbvarietäten vor, aus denen sich jedoch normal gefärbte Käfer entwickeln.

Die Larven sind wie die Käfer vorwiegend Nachttiere und ruhen tagsüber eingerollt in der Ackerkrume oder zwischen den Stoppeln. Sie haben dieselben Wirtspflanzen wie die Käfer und erzeugen auch fast das gleiche Schadbild, indem sie vom Rande her große Stücke der Blattfläche herausfressen. Die erwachsene Larve stellt im Boden oder an der Oberfläche einen derben, engmaschigen, hellbraunen Kokon her. In ihm geht die Verwandlung zur Vorpuppe und später zur Puppe vor sich.

Die Abhängigkeit der Entwicklungsdauer der Larven und der Puppe von Temperatur und Feuchtigkeit ist durch Kurven und ein Mortalitätsdiagramm wiedergegeben.

Die bisherigen Beobachtungen und Literaturangaben über den Massenwechsel, das Schadbild sowie die Schadwirkung sind zusammengestellt. Man darf aus den in Schleswig-Holstein durchgeführten Beobachtungen schließen, daß auch in Deutschland *Phytonomus punctatus* auf den Klee- und Luzernefeldern ein häufiger Gast ist, aber wegen seiner sehr versteckten Lebensweise oft übersehen wird.

Die aus dem Schrifttum bekannten Parasiten sind aufgeführt und eigene Beobachtungen hinzugefügt. In Amerika ist der weitaus wichtigste Parasit der Pilz *Entomophthora sphaerosperma* Fres., der dort in der Regel in den östlichen Staaten eine Massenvermehrung sehr bald zum Stillstand bringt und damit auch eine Bekämpfung überflüssig macht. Er konnte in Deutschland bei diesem Schädling bisher nicht nachgewiesen werden. Hier wird eine Übervermehrung am besten dadurch vermieden, daß man die Klee- und Luzernefelder nicht überaltern läßt.

In einer tabellarischen Übersicht sind die wichtigsten gemeinsamen und abweichenden biologischen Merkmale der beiden nahe verwandten Arten *Phytonomus punctatus* und *variabilis* zusammengestellt.

XI. Schrifttum.

Arthur, I. C., Report of the Botanist. (41. Ann. Rept. N. Y. Agr. Exp. Sta. Geneva 1886. p. 268—292.) — Chamberlin, T. R., Introduction of parasites of the alfalfa weevil into the United States. (U. S. Dept. Agric. Circ. 301. 1924 a. p. 1—9.) — Chamberlin, T. R., Studies of the parasites of the alfalfa weevil in Europe. (Journ. Econ. Ent. Vol. 17. 1924 b. p. 623—632.) — Folsom, I. W., The insect pests of clover and alfalfa. (Univ. Ill. Agr. Exp. Sta. Bull. 134. p. 113—197.) — Förster, A., Beiträge zur Monographie der Pteromalinen. Aachen (Mayer) 1841. 46 S. — Gahan, A. B., On the identity of a European chalcoid parasite of the alfalfa leaf-weevil. (Journ. Wash. Acad. Sci. Vol. 13. 1923. p. 408—411.) — Girault, A. A., Description of new chalcid-flies. (Ent. Soc. Wash. Proc. Vol. 16. 1914. p. 109—120.) — Großheim, N. A., Zur Biologie des *Phytonomus murinus* F. und seiner Parasiten. (Ent. Viestnik. Kiev. Bd. 2. 1913. S. 5—25.) — Howard, L. O., Report of the Entomologist for the year ended June 30. (U. S. Dept. Agric. Bur. Ent. 1926. 30 pp.) — Hudson, H. F., and Wood, A. A., Oviposition of *Hypera punctata*. (53. Ann. Rep. of the Entom. Soc. Ontario 1922. Ontario Dept. Agric. Toronto 1923. p. 70—72.) — Jaques, H. E., The 1921 outbreak of the clover leaf weevil in Iowa. (Proc. Iowa Acad. Sci. for 1921. Vol. 28. 1921. p. 127—129.) — Kaufmann, O., Der Luzerneblattnager (*Phytonomus variabilis* Hbst.). (Ztschr. f. angew. Entomol. Bd. 26. 1939. S. 312—358, 387—448.) — Kleine, R., Die Lariiden und Rhynchophoren und ihre Nahrungspflanzen. (Entomol. Blätter. Bd. 6. 1910. S. 187—205.) — Parks, T. H., The clover leaf weevil (*Hypera punctata*). (Journ. Econ. Entomol. Vol. 7. 1914. p. 297.) — Pettit, R. H., Insects of field crops. (Mich. Agr. Coll. Exp. Sta. Div. Ent. Bull. 258. 1910. p. 36—84.) — Riley, C. V., Report of the Entomologist. (U. S. Dept. Agr. 1881—1882. p. 61—214.) — Silvestri, F., Struttura dell'ovo e prime fasi di sviluppo di alcuni Imenotteri parassiti. (Boll. Labor. Zool. Gen. Agrar. R. Scuola Sup. Agr. Portici. Bd. 10. 1915. p. 66—68.) — Smith, J. B., Report of the Entomologist. (10. Rep. New Jersey State Agr. Exp. Sta. and the 2. Ann. Rep. New Jersey Agric. Coll. Expt. Stat. for 1889. Camden, N. Y. 1890. p. 241—313.) — Smith, H. D., The bionomics of *Dibrachoides dynastes* (Foerster), a parasite of the alfalfa weevil. (Ann. Entomol. Soc. of America. Vol. 23. 1930. p. 577—593.) — Titus, E. G., A monograph of the genera *Hypera* and *Phytonomus* in America, north of Mexico. (Ann. Entomol. Soc. Amer. Vol. 4. 1911. p. 383—468.) — Tower, D. G., and Fenton, F. A., Clover leaf weevil. (U. S. Dept. Agric. Bull. 922. 1920. 18 pp.) — Webster, F. M., Preliminary report on the alfalfa weevil. (U. S. Dept. Agric. Bur. of Entomol. Bull. 112. 1912. 47 pp.) — Webster, R. L., The clover weevil in Iowa. (Journ. Econ. Entomol. Vol. 10. 1917. p. 225.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Bamann, E. und Myrbäck, K., Die Methoden der Fermentforschung. Lief. 6. S. 1837—2172, m. 92 Abb. Lex. 8°. Vorzugspreis geh. 33.60 RM. Lief. 7. S. 2173—2588, m. 67 Abb. Preis geh. 41.60 RM. Leipzig (Gg. Thieme) 1941.

Während die Lieferungen 1—5 dieses hervorragenden Standardwerkes im Jahre 1940 erscheinen konnten, liegen nunmehr auch die Lieferungen 6 und 7 vor.

Lieferung 6 enthält den restlichen Abschnitt der Karbohydrasen, ferner von den Hydrolasen die Nukleasen, Amidasen, Proteasen sowie die Thrombase und die Oxynitrilese. Es folgen dann von dem großen Kapitel der „Desmolasen und Enzyme der biologischen Oxydation und Reduktion" der erste Teil der alkoholischen Gärung, dessen größerer restlicher Teil in Lieferung 7 abgehandelt wird, darunter auch die Glykolyse und anoxydative Bakteriengärungen.

Es schließen sich an Abschnitte über Dehydrasen, Zytochrome, oxytrope Dehydrasen und Oxyhydrasen sowie über die Enzyme der Sauerstoffatmung, also die eigentlichen Oxydasen, ferner über die „Enzyme des ersten Angriffs beim Zuckerabbau", über die eigentlichen Desmolasen, unter denen die Bakterien-Dekarboxylasen hier besonders erwähnt seien, über Enolasen und über Hydratasen sowie verwandte Enzyme.

Was über den Wert der vorhergehenden Lieferungen in den früheren Besprechungen gesagt ist, gilt in vollem Umfange auch für die beiden vorliegenden. *Stapp.*

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Bytschkowskaja, A. L., Über die Stickstoffernährung beim Bacillus felsineus. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 662—670.) [Russisch.]

Eiweiß stellt die günstigste Stickstoff-Form für Bac. felsineus dar, jedoch können von ihm auch mineralische Stickstoffquellen, wie $(NH_4)_2SO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)HCO_3$, KNO_3 usw. gut verwertet werden. Weiter besitzt Bac. felsineus die Fähigkeit, Luftstickstoff zu fixieren. Bei der Gärung bildet Bac. felsineus ein Gemisch aus Butter- und Essigsäure bzw. es kann Buttersäure fehlen. Beim Flachsweichen wird die Aktivität von Bac. felsineus durch die Form des Stickstoffs nicht beeinflußt. *M. Gordienko (Berlin).*

Bechterewa, M. N., Acetonbutylgärung bei kontinuierlicher Beseitigung der sich bildenden Produkte durch Extraktion. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 7. 1939. S. 854—861.) [Russisch.]

Neutrale Produkte der Acetonbutylgärung (durch Clostridium acetobutylicum) in Maismaischen werden am besten mit Rizinusöl extrahiert; dieses vermochte 50—88% Butanol, 13—60% Aceton und 5—20% Äthanol aus der Maische zu extrahieren. Durch die Extraktion von neutralen Produkten wurde es möglich, Maismaischen mit viel höherer Konzentration zu vergären als dies in der Praxis üblich ist. Dies erklärt sich dadurch, daß durch Extraktion viel günstigere Entwicklungsbedingungen für

Bakterien geschaffen werden als ohne diese: bei Versuchen stellte sich die Bakterienmenge in 1 ccm Maische bei Extraktion auf $14 \cdot 10^9$, in der Kontrolle aber höchstens nur auf $5—7 \cdot 10^9$ usw. Bei Zugabe von 50% Rizinusöl zur Maismaische mit einer Konzentration von 14% waren die Kohlenhydrate vollständig vergoren; bei der Vergärung von 30% Maismaische unter Zugabe von hohen Rizinusölmengen stellte sich die Gesamtausbeute an Alkohol und Aceton auf 59,9 g je 1 l. *M. Gordienko (Berlin).*

Manteufel, A. I., Vergleichende Charakteristik von Erregern der Buttersäure- und Acetonbutylgärung. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 9/10. 1939. S. 1096—1108.) [Russisch.]

Es wird auf die mangelhafte Untersuchung der Buttersäurebakterien und der nach einigen Autoren zu diesen gehörenden Acetonbutylbakterien hingewiesen. Untersuchungen der Gäreigenschaften von Clostridium acetobutylicum und von einigen Stämmen von Buttersäurebakterien ergaben, daß sich beide in dieser Beziehung ziemlich stark voneinander unterscheiden: Buttersäurebakterien weisen zum Ende einer Kulturentwicklung Plasmaumgruppierungen und Bildung von Granula auf, während Acetonbutylbakterien schon bei eintägigen Kulturen Autolyse zeigen, die sich dann rasch verstärkt und am 4.—5. Tage zur vollständigen Autolyse führt. Weiter besitzen Acetonbutylbakterien die Fähigkeit, Fleisch-Pepton-Glukose- und Kartoffelgelatine zu verflüssigen, während Buttersäurebakterien sich gut auf der Gelatine entwickeln, diese jedoch nicht zu verflüssigen vermögen. Auch der Verlauf des Gärungsprozesses bei den beiden Arten zeigt große Unterschiede: bei der Acetonbutylgärung steigt die Kurve der Gasausscheidung sehr rasch an und fällt dann rasch ab, während sie bei der Buttersäurebakteriengärung viel flacher verläuft und nach Erreichen ihres Maximums nicht abfällt. *M. Gordienko (Berlin).*

Schaposchnikow, W. N., Chemismus der Aceton-Äthylalkoholgärung im Lichte neuer Untersuchungsergebnisse. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 4. 1940. S. 344—354.) [Russisch.]

Kritische Betrachtungen der Theorien der Aceton-Äthylalkoholgärung von Bako'ny, Bernhauer und Kürschner und anderen. Verf. nimmt folgendes Schema biochemischer Umwandlungen bei Aceton-Äthylalkoholgärung an: Die erste Gärungsphase verläuft bei fast neutraler Reaktion und wird durch Oxydations-Reduktionsreaktion zwischen zwei Acetaldehydmolekülen nach der Reaktion von Kannizaro charakterisiert. Der oxydierende Teil der Reaktion führt zur Bildung von Essigsäure und zur Verschiebung des p_H-Wertes in sauerer Richtung, wodurch der Übergang zu der zweiten Phase begünstigt wird. Die letztere wird charakterisiert durch Aldolkondensation, die von Oxydation und Dekarboxylierung begleitet wird. *M. Gordienko (Berlin).*

Rippel, A., Energetische Betrachtungen zur Ökonomie der Fettbildung bei Mikroorganismen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 271—284.)

Es wird der Begriff „Fett-Koeffizient" aufgestellt, d. h. die Menge an Fett, die durch einen Mikroorganismus auf 100 g verarbeiteten Zucker gebildet wird (analog dem ökonomischen und dem Eiweiß-Koeffizienten).

Es wurden Berechnungen angestellt über die energetischen Verhältnisse bei der Fettbildung durch Mikroorganismen unter variierten ökonomischen

Verhältnissen und Eiweißgehalten. Dabei ergab sich, daß ein Fett-Koeffizient von 15 ungefähr das Maximum des Möglichen darstellt. Als begrenzende Faktoren treten dabei in Erscheinung: sinkender ökonomischer Koeffizient, sinkender Eiweißgehalt und Sinken des Gehaltes an sonstigen organischen Zellbestandteilen. In der Literatur vorliegende Versuche bestätigen diese Feststellungen. Eine genaue experimentelle Durcharbeitung der besprochenen Verhältnisse erscheint indessen noch wünschenswert.

Dieser maximale Fett-Koeffizient ist von der Menge des prozentigen Fettgehaltes, bezogen auf Trockensubstanz, weitgehend unabhängig und kann zwischen 25 und 50% Fettgehalt gleich sein. Das Sinken des ökonomischen Koeffizienten bei hohem Fettgehalt hat sogar den praktischen Nachteil, daß gegenüber geringerem prozentigen Fettgehalt bei gleichem Fett-Koeffizienten weniger Mikroorganismenmasse und damit auch weniger Eiweiß gebildet wird.

Rippel (Göttingen).

Bytschkowskaja, A. L., Fettbildung durch den Pilz Endomyces vernalis. I. Der Einfluß der Zusammensetzung des Substrates auf die Fettbildung durch Endomyces vernalis unter den Bedingungen des Filmwachstums. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 9/10. 1939. S. 1170—1180.) [Russisch.]

Untersucht wurden 7proz. Hefewasser, Bierwürze und Saccharosemelasse. Zur Erhaltung eines mächtig entwickelten und mit Fett gut angereicherten Films ist in Substraten die Gegenwart von assimilierbarem Stickstoff, Kohlenstoff und von Phosphor erforderlich. Mit $(NH_4)_2SO_4$, NH_4NO_3 und $(NH_4)_3PO_4$ erzielte man auf Hefewasser und Bierwürze keine günstigen Resultate, dagegen bessere auf Saccharosemelasse, besonders in Gegenwart von Kreide; organische Stickstofformen (Asparagin, Pepton, Harnstoff usw.) ergaben gute Resultate nur auf Hefewasser. Als optimale Zuckerkonzentration erwies sich eine solche von 3—5%, hohe Zuckerdosen hemmen den Prozeß und die Fettbildung. Mangel an Stickstoff bei genügenden Zuckermengen ruft verminderte Ausbeute an Trockensubstanz und hohen prozentualen Fettgehalt hervor, Überschuß an Stickstoff bei Zuckermangel niedrige Ausbeute an Trockensubstanz und sehr geringen bzw. gar keinen Fettgehalt. Mangel an P führt zur unvollständigen Verwertung von Zucker, Überschuß von P beeinflußt den Prozeß in Richtung eines fettarmen Wachstums. Bei einer Zuckerkonzentration von 5% ist Zucker am 5.—7. Tage vollständig verwertet, und im weiteren vermindert sich schon die Menge von fetthaltigen Zellen.

M. Gordienko (Berlin).

Kriss, A. E. und Korenjako, A. I., Über Pigmente der Mykobakterien. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 6. 1939. S. 686—693.) [Russ.]

Die meisten Mykobakterien bilden keine Pigmente, die gefärbten rote, orange, gelbe, grüne, blau-violette und schwarze Farbstoffe (Mycobacterium nigrum Krass.). Pigmente der Mykobakterien zeigen große Unterschiede in bezug auf ihre Eigenschaften. Die meisten Pigmente gehören der Gruppe der Carotinoide an, seltener werden Lipoaktinochrome, Hydroaktinochrome u. a. gebildet. Nach ihrer Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln werden die Pigmente in 3 Gruppen eingeteilt. Bei vielen Mykobakterien wird die Färbung durch mehrere Pigmente bedingt.

M. Gordienko (Berlin).

Krassilnikow, N. A. und **Korenjako, A. I.**, Bakterizider Stoff bei Aktinomyceten. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 6. 1939. S. 673—684.) [Russisch.]

Aktinomyceten bilden einen bakteriziden Stoff, der am stärksten auf Proaktinomyceten, Mykokokken, Mykobakterien und Mikrokokken, dagegen weniger stark auf sporentragende und gar nicht auf sporenlose Bakterien einwirkt; dabei werden Mikroorganismenzellen entweder aufgelöst oder sterben ohne Lysis ab. Der bakterizide Stoff läßt sich filtrieren, ist ziemlich widerstandsfähig gegen hohe Temperaturen und ähnelt in bezug auf seine Eigenschaften dem Lysozym, ist jedoch mit dem letzteren nicht identisch.

M. Gordienko (Berlin).

Kriss, A. E., Über Lysozyme bei Aktinomyceten. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 1. 1940. S. 32—38). [Russisch.]

Zur Untersuchung benutzte man den durch besondere lytische Kraft gekennzeichneten Stamm 41 von Actinomyces violaceus Gasp. Der lysierende Faktor des Stammes weist gewisse Ähnlichkeit mit Lysozym auf: er wird leicht durch Wasser extrahiert, ist in Chloroform, Schwefeläther und Benzin unlöslich, widerstandsfähig gegen Luft-, Licht- und Temperaturwirkung. Bei sauerer Reaktion findet keine Lysis statt. Der optimale p_H beträgt 7,1—7,8. *M. Gordienko (Berlin).*

Kalinenko, W. O., Die Isolierung der Reinkultur von Leptothrix ochracea. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 6. 1940. S. 615—618.) [Russisch.]

Die Isolierung der Reinkultur von Leptothrix ochracea (Kütz) verläuft in zwei Etappen: 1. Anhäufung von Eisenbakterien mittels des Heuextrakts und des kieselsauren Eisens, und 2. nachfolgende Befreiung der L. ochracea von Begleitbakterien (durch Mischung eines Filmtröpfchens mit 10 ccm Agar, der Eisenammonzitrat enthält).

M. Gordienko (Berlin).

Kowrowtzewa, S. A., Zusammenwirkung zwischen den Hefen und Milchsäurebakterien bei ihrer gemeinsamen Kultur. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 7, 1939. S. 797—804.) [Russisch.]

In Kulturen mit Hefen zeigen die Milchsäurebakterien Streptobacterium plantarum und Betabacterium Orla-Jensen die Fähigkeit, in Hefezellen einzudringen. In frischen Kulturen bzw. bei hoher Temperatur (bis 35°) geht dieser Prozeß schnell vor sich. Besonders intensiv werden Hefezellen durch Stämme Nr. 1, 3 und 6 zerstört; Hefestamm Nr. 1 wird schneller zerstört als Nr. 6. Weiter äußert sich die Einwirkung von Milchsäurebakterien auf Hefen in einer Stimulierung der Sporenbildung bei den letzteren. Das Eindringen von Milchsäurebakterien in Hefezellen wurde auch bei gewöhnlichen Preßhefen beobachtet. Es wird die Vermutung ausgesprochen, daß die Erkrankung von Preßhefen — neben anderen Bakterientypen — auch durch Milchsäurebakterien verursacht wird.

M. Gordienko (Berlin).

Kondrat'jewa, T. M., Einfluß von Kalziumsalzen auf den Bau und die Lebenstätigkeit der Hefen. (Mikrobiol. Inst. d. Akad. d. Wiss. SSSR., Moskau.) (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 1. 1940. S. 114—127.) [Russisch.]

Unter der Wirkung von Kalziumsalzen ($CaCO_2$, $CaSO_4$ usw.) tritt eine

Bereicherung der Hefezellen mit Fett, sodann eine Verdickung der Zellhüllen auf; die Zellen selbst nehmen eine rundliche Form an. Kalziumsalze unterdrücken die Vermehrung der Hefen, und zwar proportional der Salzkonzentration; Sporenbildung wird stark stimuliert. Zugabe von Kalziumsalzen in einer Konzentration von 0,1 mol in Bierwürze mit Hefen stimuliert den Gärprozeß; dabei verändert sich auch der Charakter des Hefesatzes ziemlich stark. *M. Gordienko (Berlin).*

Firsanowa, A. N., Veränderlichkeit von Saccharomyces cerevisiae unter dem Einfluß von anorganischen und organischen Säuren. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 654—660.) [Russisch.]

Anorganische Säuren (HCl, H_2SO_4, HNO_3) und Natriumsalze der Benzoe- und Salizylsäure rufen bei Saccharomyces cerevisiae Bildung von stabilen Saltanten vom „R"-Typ hervor. In den meisten Fällen entstehen neue Rassen in 0,1 n-Lösungen und bei längerer Einwirkung. Dabei können verschiedene Säuren die gleichen Varianten ergeben, d. h. die Wirkung der Säuren ist nicht spezifisch. Die biochemische Aktivität einiger neuer Rassen übertraf die der Ausgangsrassen. Die chemische Zusammensetzung der Saltanten zeigt manche Unterschiede von der der Ausgangskulturen, und zwar weisen die ersteren verminderten Wasser- und Eiweißgehalt sowie verschiedenen Aschegehalt auf. *M. Gordienko (Berlin).*

Netschajewa, A. S., Einfluß der Humin-Melanine auf das Hefewachstum. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 679—684.) [Russisch.]

Versuche zeigten, daß Humin-Melaninstoffe in einer Konzentration von über 0,08% eine hemmende Wirkung auf das Wachstum von Saccharomyces cerevisiae, Rasse XII, ausüben. Diese Wirkung wird nämlich durch kolloidale Eigenschaften der Humin-Melaninstoffe bedingt. Bei einer Konzentration von 0,03% wirken Humin-Melaninstoffe auf das Hefewachstum stimulierend. *M. Gordienko (Berlin).*

Krukowskaja, G. E., Einfluß einiger stickstoffhaltiger organischer Stoffe auf die Vermehrung von Torula utilis. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 4. 1940. S. 321—329.) [Russisch.]

Torula utilis entwickelt sich gut auf synthetischen mineralischen Nährsubstraten, wobei als Stickstoffquelle auch verschiedene Aminosäuren verwertet werden können. Durch den Ersatz von Ammoniumsulfat durch Asparagin bzw. Arginin wird die Vermehrung von Torula utilis bedeutend beschleunigt. Schon in kleinen Dosen synthetischen mineralischen Nährsubstraten zugegeben (0,003 g/100 ccm Nährboden), übt Asparagin eine aktivierende Wirkung aus. Weiter wird die Vermehrung von Torula utilis durch kristallines B_1-Vitamin sowie durch Extrakte aus Pflanzenblättern bzw. aus Hefen aktiviert. *M. Gordienko (Berlin).*

Windisch, S., Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an Torulopsis pulcherrima (Lindner) Saccardo und Candida tropicalis (Castellani) Berkhout. Ein Beitrag zur Systematik der Gärungsmonilien. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 368—390.)

Verf. beobachtete bei Torulopsis pulcherrima und Candida tropicalis Erscheinungen, die er als Ascusbildung deutet: Gemmenartige Mutterzellen stülpen einen stets viersporigen, bald einreißenden Ascus aus. Für Torulopsis gibt Verf. auch das Verschmelzen der Nachkommenzellen der Ascosporen an. Alle vegetativen und die Ascosporen-Mutterzellen sind zweikernig. Dies sowie die Sprossung der Ascosporen veranlassen den Verf., die beiden Pilze zu den Exoascales einzureihen. Torulopsis pulcherrima soll fortan Candida p. heißen, und alle candidoiden Pilze sind in der neuen, zu den Exoascales zu stellenden Familie der Candidaceae zu vereinigen. Es wäre zu wünschen, daß die eigenartigen Ergebnisse möglichst bald nachgeprüft würden.

Rippel (Göttingen).

Blinc, M., Riechstoffbildung bei Schimmelpilzen. I. Mitt. Biologie der Riechstoffbildung und Orientierung über den Chemismus einiger Pilzriechstoffe. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 391—405.)

Die Riechstoffe von Penicillium expansum Link und von einer von Eichel isolierten Penicillium-Art (wohl zu P. granulatum gehörig) sind Ester, die von Scopulariopsis spec. (von Camembert isoliert) ist ein Keton. Bei den beiden erstgenannten ist die Bildung des Riechstoffes an die Anwesenheit größerer Mengen von rotbraun gefärbten Gemmen (die der Unterseite des Myzels eine orangerote oder gelbe Farbe verleihen) und Sporen gebunden. Auch bei der letztgenannten Art treten Gemmen auf, die aber farblos bleiben.

Rippel (Göttingen).

Lohrmann, W., Untersuchungen über die antagonistische Wirkung von Magnesium gegenüber Bor und Quecksilber bei einigen Pilzen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 329—367.)

Die Mengen an Magnesiumsulfat, Borsäure und Sublimat, die von verschiedenen Pilzen vertragen werden können, sind sehr verschieden: Bei Aspergillus flavus entfalten erst 40 g Magnesiumsulfat eine Giftwirkung, bei Rhizopus nigricans bereits 2 g auf 100 ccm Nährlösung. Für Sublimat liegt die Giftwirkung bei Mucor pusillus bei 40 mg%, bei Fusarium coeruleum bei 2,5 mg%. Bei Aspergillus niger lag die Schädigungsgrenze für Borsäure bei 0,8%, bei Cunninghamella elegans bei 0,05%.

Äußerst verschieden ist auch die antagonistische Wirkung einer schädlichen Gabe von Magnesiumsulfat gegenüber einer solchen von Sublimat bzw. Borsäure. Im Extremfalle konnte bei Mucor pusillus die völlige Sistierung des Wachstums durch Sublimat vermittels einer an sich schädlichen Gabe von Magnesiumsulfat aufgehoben werden; ein gleiches gelang bei diesem Pilz für die Borsäure. Im übrigen wurden alle Abstufungen festgestellt, sei es, daß die antagonistische Wirkung lediglich die Hemmung des Wachstums durch den einen Antagonisten verringert, sei es, daß die antagonistische Wirkung zu einer Ertragsteigerung führt, die noch über dem Wert für den am geringsten hemmenden Antagonisten liegt. In einigen Fällen war auch kein Antagonismus zu beobachten; was in erster Linie von der Art des Pilzes abhängt. Einzelheiten sind aus dem Original zu ersehen. Die beiden folgenden Beispiele deuten einiges an:

Mucor pusillus.

$MgSO_4$	0,1%	527 mg Myzel
„	0,1% + 60 mg% Sublimat	0 „ „
„	4,0%	253 „ „
„	4,0% + 60 mg% Sublimat	60 „ „
$MgSO_4$	0,1%	916 „ „
„	0,1% + 20 mg% Sublimat	851 „ „
„	4,0%	500 „ „
„	4,0% + 20 mg% Sublimat	1046 „ „

Die Giftwirkungen von Sublimat und Borsäure summieren sich im allgemeinen; nur vereinzelt konnte auch zwischen diesen beiden Stoffen eine leichte antagonistische Wirkung festgestellt werden.

Sublimat und Borsäure können auch in „normalen" Nährlösungen eine leichte Ertragsteigerung zur Folge haben; sie sind aber nicht im eigentlichen Sinne lebensnotwendig. Für Mucor pusillus konnte das, bei gleichzeitiger Bestimmung des Bors im Myzel durch Kultur in Quarzkölbchen nachgewiesen werden. Bei Aspergillus niger hatte Sublimat eine deutliche fördernde Wirkung auf die Sporenbildung, bei Gaben, die an sich eine Ertragsverminderung bewirken. Zu den lebensnotwendigen Elementen gehört aber das Quecksilber zweifellos nicht.

Der Begriff „Nährstoff" wird durch den Begriff „Nährstoffwirkung" ersetzt und diese durch die ökologische Betrachtung der Nährstoffwirkung erweitert: Bei bestimmter Zusammensetzung der Nährlösung bzw. unter besonderen ökologischen Bedingungen kann ein an sich nicht lebensnotwendiger Stoff völlig den Charakter eines Nährstoffes hinsichtlich der durch ihn bewirkten Ertragsteigerung annehmen.

Der Begriff „Reizstoff" oder „Reizwirkung" ist für alle zu einer Steigerung des Gesamtertrages führenden Stoffe bzw. Vorgänge abzulehnen.

Rippel (Göttingen).

Melin, E. und Nyman, B., Weitere Untersuchungen über die Wirkung von Aneurin und Biotin auf das Wachstum von Wurzelpilzen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 318—328.)

Clitopilus Prunulus, Boletus luteus und B. variegatus sind absolut Aneurin-bedürftig. Bei Lactarius deliciosus, B. granulatus, piperatus, viscidus und Cenococcum graniforme wirkte Aneurin stark fördernd, wenn auch aus gewissen Gründen noch kein Urteil über absolute Aneurin-Bedürftigkeit abgegeben werden kann. B. granulatus, piperatus und Cenococcum scheinen jedenfalls selbst die Fähigkeit zu einer gewissen Synthetisierung des Aneurins zu besitzen.

Biotin förderte das Wachstum von B. piperatus und Cenococcum, hatte aber keinen Einfluß auf die übrigen Arten.

Es zeigte sich also, daß die Mykorrhizapilze hinsichtlich ihrer Wuchsstoff-Ansprüche durchaus nicht gleichwertig sind. *Rippel (Göttingen).*

Pirson, A., Stoffwechselphysiologische Analyse des Mineralsalzmangels mit einzelligen Algen. (Die Ernährung d. Pflanze. Jahrg. 36. 1940. S. 25—31.)

Zur weiteren Klärung der schon an höheren Pflanzen mehrfach nachgewiesenen Hemmung der CO_2-Assimilation bei Kalimangel wurden stoffwechselphysiologische Untersuchungen mit der zu den Protococcales gehörigen

Grünalge Chlorella durchgeführt. Diese bietet den großen Vorteil, die Aufzucht auch heterotroph mit Glukose im Licht und im Dunkeln vorzunehmen. Die Stoffwechselmessungen wurden mit der manometrischen Methode ausgeführt. Aus den Druckänderungen, die die Zellsuspensionen im Manometer bei Assimilation oder Atmung infolge der verschiedenen Löslichkeit von Kohlensäure und Sauerstoff hervorrufen, wurde mit den von Warburg angegebenen Formeln die Atmungs- bzw. Assimilationsintensität errechnet. Dabei wurde festgestellt, daß die Photosynthese von ganz anderen Faktoren gesteuert wird als vom Chlorophyll. Assimilation und Chlorophyllmenge können also unabhängig voneinander sein (ein unmittelbares Eingreifen des Chlorophylls in den Assimilationsvorgang war ja sowieso nicht mehr vertretbar, nach neueren Vorstellungen wurde das Chlorophyll lediglich als Photosensibilisator der Kohlensäurereduktion aufgefaßt). Blieb der Kalimangel innerhalb bestimmter Grenzen, so führte erneuter Salzzusatz zu einem überraschend schnellen Neuanstieg der Assimilation. Die Chlorophyll-Neubildung dagegen setzte später und langsam ein. Bei langandauerndem starken Kalimangel wurde die Photosynthese irreversibel geschädigt; an ihre Stelle trat eine Photooxydation, die zum völligen Abbau des Zellmaterials führte.

Außer auf die Photosynthese übt Kalimangel offenbar auch auf andere Teilvorgänge einen nachteiligen Einfluß aus; denn die Kalimangelsymptome waren auch bei heterotropher Ernährung noch deutlich bemerkbar, was dagegen spricht, daß das Kalium ausschließlich auf dem Wege über die Photosynthese die Versorgung der Zelle mit Aufbaumaterial (Kohlehydraten) beeinflußt. Es wird vermutet, daß der Kalimangel besonders noch den Stickstoff-Stoffwechsel (Nitratreduktion oder Proteinsynthese) in Mitleidenschaft zieht. *Rodenkirchen (Dresden).*

Ondratschek, K., Experimentelle Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Vitaminbedürfnis und Verlust des Synthesevermögens einiger mixotropher Algen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 228—238.)

Einige Hormidium-Arten wurden auf das Verhalten gegen Askorbinsäure und Aneurin geprüft; sie zeigten sich teilweise bedürftig. Zusatz von Extrakt nichtbedürftiger Arten zu Kulturen der bedürftigen hatte die gleiche ertragsteigernde Wirkung wie Zusatz der reinen Vitamine, während die Extrakte bei den nichtbedürftigen Arten wirkungslos blieben. Daraus ergibt sich, daß bei den bedürftigen Arten Verlust des Synthesevermögens dieser Vitamine stattgefunden hat. *Rippel (Göttingen).*

Ondratschek, K., Über das Wirkstoffbedürfnis heterotropher Algen. I. Mitt. Aneurin als Wachstumsfaktor für Chilomonas paramaecium. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 239—263.)

Chilomonas paramaecium benötigt zum Wachstum Aneurin oder ein Gemisch von Thiazol und Pyrimidin. Durch Pyrimidin allein ist das ganze Molekül nicht zu ersetzen, durch Thiazol nur teilweise. Die optimale Aneurin-Gabe beträgt 1 γ je 100 ccm Nährlösung.

Junges in starker Vermehrung befindliches Impfmaterial ergibt höhere Ernten als älteres; dieses kann durch wenige Passagen wieder aufgefrischt werden. Die Menge des Impfmaterials ist dann ohne Bedeutung für die Ernte.

Gute Durchlüftung hemmt die Vermehrung. Größerer Rauminhalt führt zu höherer Ernte, bei gleicher absoluter Menge der Nährstoffe. Weitere Untersuchungen erstrecken sich auf die günstigste Konzentration der Nährstoffe. Eisen, als $FeCl_3$ gegeben, wurde, entgegen der Angabe von Lwoff, durch Sterilisieren nicht unwirksam.

Die Angabe von Mast und Pace, daß Chilomonas ihren Kohlenstoffbedarf aus Kohlensäure allein decken könne, wurde widerlegt. Jedoch übt die Kohlensäure einen fördernden Einfluß auf die Vermehrung aus, wenn der Organismus auch in Kohlensäure-freier Atmosphäre zu gedeihen vermag.

Rippel (Göttingen).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Kollath, W., Paratyphusverhütung und die Kaki-Cambell-Ente. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 125. 1940. S. 127—131.)

Um Paratyphus-Infektionen durch Enteneier mit Sicherheit zu vermeiden, ist das Kochen der Eier (10 Min.) nicht hinreichend. Die meisten Infektionserreger sitzen an der Schale und können Kontakt-Infektionen verursachen, wie an einem Beispiel gezeigt wird. Eingeführte Enteneier müssen deshalb einem wirksamen Desinfektionsverfahren unterworfen werden; vielleicht eignet sich Nipasol. *Rodenkirchen (Dresden).*

Jegorowa, A. A., Veränderungen der Mikroorganismenmenge beim Korn nach der Wirkung des Elektrotrocknungsapparates. (Berichte d. Akad. d. Wiss. SSSR. Bd. 24. Nr. 8. 1939. S. 800—803.) [Russisch.]

Nach dem vierten Durchlassen von Korn durch einen Elektrotrocknungsapparat (System Worob'jew) war der Feuchtigkeitsgehalt in diesem um 7,0% und die Mikroorganismenmenge ca. um das Zehnfache herabgesetzt. Die Minderung der Mikroorganismen wird hauptsächlich durch durchblasende Wirkung des Apparates bedingt. *M. Gordienko (Berlin).*

Kublanowskaja, G. M., Zersetzung des Sonnenblumenöles durch Mikroorganismen bei verhindertem Luftzutritt. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 6. 1939. S. 706—712.) [Russisch.]

Bakterien des Bodens rufen bei verhindertem Luftzutritt Zersetzung des Sonnenblumenöles hervor; dasselbe bewirken auch gemischte Bakterienkulturen, ebenso bei der Aussaat mit nicht sterilisiertem Boden. Die stärksten Veränderungen riefen Bac. megaterium, Bac. polymyxa und Nr. 111 (Schimmel) hervor. Bewachsen der Bodenteilchen mit Fett wurde nicht beobachtet, was sich durch Adsorption des durch Mikroben zersetzten Öles durch Bodenteilchen erklärt. Bestimmungen des Säuregehalts des Öles zeigten, daß dabei in den meisten Fällen eine bedeutende Steigerung des Säuregrades stattfindet, in manchen Fällen jedoch keine, was seine Erklärung darin findet, daß die entstandenen Säuren durch Bakterien selbst verbraucht werden, bzw. kann auch Ölzersetzung bei schwacher Spaltung in Glyzerin und Säuren vor sich gehen (Versuche mit Bac. asterosporus, Bac. mesentericus vulgatus Flügge, Bac. lactimorbus, Bac. megaterium, Bac. pseudotetanicus u. a.)

M. Gordienko (Berlin).

Falkowa, T. D. und Mischustin, E. N., Ein Pilz aus der Gattung Monilia, der Blaufärbung der Makkaroni bei ihrer

Trocknung hervorruft. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 1. 1940. S. 54—57.) [Russisch.]

Das Erscheinen von blauvioletten Streifen auf Makkaroni oder auf dem Packpapier von Makkaroni bei ihrer Lagerung bzw. Trocknung wird durch einen Pilz aus der Gattung Monilia verursacht. Die Keime des Pilzes enthält das Packpapier selbst. Die optimale Temperatur für die Entwicklung beträgt 30—33°, der optimale p_H = 6,8—7,8. Der Pilz ist nicht pathogen.

M. Gordienko (Berlin).

Rudakow, K. I., Harzstein, N. G. und Schischelowa, N. A., Catenularia fuliginea als Erreger einiger Defekte bei der gezuckerten Kondensmilch. (Allruss. Inst. f. landw. Mikrobiologie, Moskau.) (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 1. 1940. S. 45—52.) [Russisch.]

Etwa in 97% der untersuchten, durch den schokoladebraunen Schimmel befallenen Kondensmilchproben wurde Gegenwart von Catenularia fuliginea festgestellt. Der Schimmel entwickelt sich in Form von Flecken, Ballen, „Knöpfen“ usw. von brauner, rötlicher bzw. von gelblicher Farbe, wobei die Milch einen unangenehmen käsigen Geschmack und Geruch bekommt. Die optimale Temperatur für die Entwicklung des Pilzes beträgt 20—25°, bei —5° bis +5° entwickelt er sich nicht, bei 10 und 30° ist die Entwicklung nur schwach. Der Pilz entwickelt sich gut bei einem Saccharosegehalt von 61—63%, erst bei 65,5% wird die Entwicklung etwas gehemmt. Aspergillus und Penicillium zeigten unter diesen Bedingungen nur ganz spärliches Wachstum. Bei der Pasteurisierung der Milch werden die Sporen von Catenularia fuliginea vollständig abgetötet. Die Verunreinigung der Kondensmilch geschieht nur durch die Luft im Laufe der Schlußphasen des Herstellungsprozesses, wobei als Hauptquelle der Verunreinigung Feinzucker in Frage kommt.

M. Gordienko (Berlin).

Wizir, P. E., Bakterielle Verunreinigung des Brynzakäses, Methoden zu ihrem Unschädlichmachen und Kennzeichen zur Bewertung. II. Mitt. Der Einfluß verschiedener Salzkonzentration auf die Lebenstätigkeit der Milchsäuremikroben. (Journal f. Mikrobiologie. Bd. 6. Nr. 4. 1940. S. 75—89.) [Ukrainisch.]

Die Aktivität der Säurebildung bei Milchsäurebakterien ist der wichtigste, die Entwicklung der schädlichen Nebenmikroflora in Brynzakäse beeinflussende Faktor. Beim Salzen und bei der Reifung des Käses verläuft die Tätigkeit der Milchsäurebakterien bei großen Salzkonzentrationen. Verf. untersuchte die Aktivität der Milchsäurebakterien (2 Stämme von Strept. lactis, 3 Stämme von Thermobacterium und 4 Stämme von B. casei) bei verschiedener Salzkonzentration und kam zu den folgenden Ergebnissen: bei einer Salzkonzentration von 5% in der Milch blieben alle stäbchenartigen Formen und der Stamm 2 von Strept. lactis 10—15 Tage lang am Leben, bei einer solchen von 10—15% starben sie am 5. bis 6. Tage ab; der Stamm 1 von Strept. lactis erwies sich als sehr widerstandsfähig und blieb im Laufe von 10 Tagen am Leben bei Konzentrationen von 10—15%, ohne in der Milch Veränderungen hervorzurufen. Die Aktivität der Säurebildung mit 5% Salz in der Milch war sehr verschieden: Strept. lactis 2, B. casei 1 und 2 und Thermobacterium 1, 2 und 3 veränderten den Säuregrad der Milch nicht bzw. veränderten ihn nur ganz

wenig, auch vermochten sie die Milch nicht zur Gerinnung zu bringen; Strept. lactis 1 und B. casei 393 und 394 erwiesen sich als viel aktiver und riefen eine bedeutende Erhöhung des Säuregrades der Milch hervor. In der Milch mit 10—15% Salzgehalt zeitigten alle untersuchten Stämme kein Wachstum. *M. Gordienko (Berlin).*

Reinmuth, E., Gesundheitsschädigungen durch Verfütterung von pilzkrankem Klee. (Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 68. 1941. S. 103—104, 5 Abb.)

Schäden an Vieh beim Verfüttern von Klee, der von Rost oder Mehltau befallen war, sind verschiedentlich beobachtet worden. Besonders starke Ausfälle haben sich aber in den letzten Jahren ergeben, wenn Klee verfüttert wurde, der die durch Polythrincium trifolii verursachte Kleeschwärze aufwies. Nach Berichten von Crüger sollen Pferde besonders empfindlich sein. Der bisher vertretenen Ansicht, daß Rinder weniger empfindlich seien, tritt Verf. nicht bei, da ihm aus Mecklenburg ein Fall bekannt geworden ist, wo 8 Rinder nach Verfüttern von erkranktem Klee eingingen. Auch an Schafen entstanden starke Ausfälle.

Winkelmann (Münster i. W.).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Siegel, O., Mehrjährige Beobachtungen über den Abbau und die Humifizierung organischer Stoffe im Boden. (Bodenkunde u. Pflanzenernährung. Bd. 21/22. 1940. S. 455—471.)

Ausgehend von gleicher Kohlenstoffmenge wurde die Humifizierung verschiedener Stallmistarten (Kalt- und Heißmist), von Stroh, Torf, Lignin, Klee, Gemenge und Senf im Boden bei verschiedenem, künstlich verändertem C / N-Verhältnis in Freilandversuchen untersucht. Der Abbau der geprüften organischen Stoffe wurde durch Kalt- und Heißextraktion mit Lauge, Fluorid und Oxalat sowie durch Bestimmung des Gesamt (C_t)- und Humus (C_h)-Kohlenstoffgehaltes näher verfolgt. Unterschiede zwischen den Stallmistarten, Stroh und Gründünger ergaben sich nur in der Entwicklung des C_t- und C_h-Gehaltes, während die Menge der beim Abbau entstehenden extrahierbaren Humussäuren in allen Fällen praktisch dieselbe war. Das C / N-Verhältnis beeinflußte den Abbau nur in geringem Grade (sehr dagegen die anfänglichen Erträge).

Die Stallmistrotte und der damit zwangsläufig verbundene hohe Verlust an organischer Masse bringt in bezug auf die weitere Humifizierung im Boden bei keiner Stalldüngerart Vorteile. Es wird deshalb die praktisch wichtige Frage aufgeworfen, ob es nicht wesentlich vorteilhafter wäre, das überschüssige Stroh mit einer Stickstofflösung anzufeuchten und sofort zur Düngung zu verwenden, anstatt den Umweg über den Mehrungsmist einzuschlagen. Bevor jedoch der Vorschlag der Strohdüngung gemacht werden kann, ist der Einfluß auf den Ertrag, die Art der Anwendung und die Möglichkeit von Stickstoffverlusten zu klären. Vorerst kann lediglich die Forderung erhoben werden, möglichst wenig Einstreu zu verwenden und nur Kaltmist zu erzeugen, da hier der Rotteschwund erwiesenermaßen am geringsten ist.

Chemische Methoden allein erlauben keine sicheren Rückschlüsse auf die Umsetzungsfähigkeit organischer Düngemittel im Boden. Ebensowenig lassen die bisherigen Extraktions- und Lösungsmethoden eine Qualitätsbeurteilung der aus der organischen Masse im Boden sich bildenden Humus-

stoffe zu, da sämtliche gefundenen Werte in keiner näheren Beziehung zum Ertrag stehen. So hat z. B. Torf bezüglich des Humusgehaltes stets die höchsten Werte, bezüglich des Ertrages dagegen im großen und ganzen die niedrigsten Werte geliefert. Maßgebend ist eben nicht der Gehalt, sondern die Qualität der Humusstoffe, und diese liegt im physikalisch-chemischen Zustand bzw. im Aufbau des Humusmoleküls begründet. Vielleicht, daß deshalb die Prüfung der Pufferfähigkeit und die Sorptionskapazität eine bessere Beurteilung ermöglicht. Für die Abtrennung und Typisierung von Humusstoffen in Bodenarten und -profilen behalten die verschiedenen Humusbestimmungsmethoden natürlich nach wie vor ihre Brauchbarkeit.

Rodenkirchen (Dresden).

Rotini, O. T., Die Faktoren der Kalkstickstoff-Umsetzung im Boden. (Bodenkunde u. Pflanzenernährung. Bd. 20. 1941. S. 357—361.)

Die Arbeit wendet sich gegen die Untersuchungen von Schmalfuß, die erstmals die biologische Umwandlung des Cyanamids in Harnstoff unter Beweis stellten. In der angewandten Versuchsanstellung ergab sich für die normalen und für die bei 100° erhitzten Böden bezüglich der Umsetzungsgeschwindigkeit annähernd derselbe Koeffizient. Die Umsetzung des Kalkstickstoffs wird in erster Linie auf anorganische Katalysatoren zurückgeführt, und zwar vor allem auf Mangandioxyd, Ferrioxydhydrat und Aluminiumoxydhydrat. Die Bedeutung der Mikroorganismen wird als belanglos erklärt.

Rodenkirchen (Dresden).

Schmalfuß, K., Erwiderung auf die Mitteilung von O. Rotini: Die Faktoren der Kalkstickstoff-Umsetzung im Boden. (Bodenkunde u. Pflanzenernährung. Bd. 20. 1941. S. 362—363.)

Die Ergebnisse von Rotini werden auf fehlerhafte Versuchsanstellung zurückgeführt. Wie Verf. schon früher nachgewiesen hat, sind rein wässerige Lösungen, die über 0,45‰ Cyanamid (bzw. über 30 mg Stickstoff in 100 ccm) enthalten, nicht mehr beständig; sie setzen sich bereits spontan um in Harnstoff und Dicyanamid. Rotini aber wandte mehr als das Zehnfache der vom Verf. ermittelten Grenzkonzentration an. Für die Wichtigkeit der Mikroorganismen bei der Umsetzung des Kalkstickstoffs spricht schon die Erfahrung, daß in Kunstmist aus Stroh, Wasser und Kalkstickstoff die Ammonifikation normal verläuft, obgleich anorganische Katalysatoren so gut wie ganz fehlen. Im übrigen wird darauf hingewiesen, daß die Möglichkeit einer rein katalytischen Umwandlung des Cyanamids nie bestritten, sondern vielmehr bestätigt worden ist. *Rodenkirchen (Dresden).*

Wienhus, F., Zur Kenntnis der Umsetzung des Kalkstickstoffs im Boden. (Bodenkunde u. Pflanzenernährung. Bd. 21/22. 1940. S. 417—441.)

Zur Prüfung des Einflusses der Temperatur sowie des Gehaltes von Boden an Humus und Katalysatoren auf die Umsetzung des Kalkstickstoffs wurden Versuche in sechs verschiedenen Böden durchgeführt. Es ergab sich eine starke Abhängigkeit der Umsetzung von der Temperatur, und zwar im Zusammenhang mit dem Mikroorganismenleben der Böden. Der Temperaturkoeffizient lag bei diesen Umsetzungen höher als bei entsprechenden rein chemischen Reaktionen. Bei tieferen Temperaturen hing die Umsetzungsgeschwindigkeit wesentlich von dem Bodencharakter ab. Während die Am-

monifikation bei $+2^0$ in leichtem, lehmigen Sandboden über 3 Monate währte, war sie in humusreichem, schwerem Oderbruchboden bereits nach 10 Tagen annähernd beendet. Der eigentlich dominierende Faktor ist aber offenbar die Mikroorganismentätigkeit, in leichteren Böden so gut wie ausschließlich, in schwereren Böden dagegen ist außerdem noch mit der mehr oder weniger ausgeprägten katalytischen Beteiligung der Bodenkolloide zu rechnen. Humuszufuhr vermochte, wie schon Best feststellte, die Umsetzungen in humusarmen Böden wesentlich zu beschleunigen. Guter Humusgehalt wirkt außerdem der Gefahr der Cyanamid-Auswaschung entgegen, die bei frühzeitiger Anwendung des Kalkstickstoffs zur Winterung besteht und dadurch bedingt ist, daß das Cyanamid bei niedrigen Temperaturen sehr langsam abgebaut wird. Außer den durch Cyanamid-Auswaschung entstehenden Stickstoffverlusten können weitere durch Ammoniakverdunstung eintreten. Sie dürften bei Kopfdüngung im Frühjahr einen erheblichen Umfang annehmen, insbesondere, wenn der Kalkstickstoff bei warmem Wetter auf feuchtem Boden liegen bleibt. Aber selbst bei Konzentrationsminderung durch Regen sind Verluste in adsorptionsschwachen Böden wahrscheinlich, da der in den oberen Bodenschichten adsorbierte Kalk alkalische Reaktion herbeiführt und die Bindung von Ammoniak verhindert. Weiterhin können auf leichten Böden bei verhältnismäßig trocknem und kühlem Wetter selbst bei Ausstreuen des Kalkstickstoffs vor Rübeneinsaat Keimschädigungen durch freies Cyanamid vorkommen.

Zwischen dem mineralischen Bodenanteil (Ton, Eisen, Mangan) und der Zersetzungsintensität waren keine Beziehungen feststellbar.

Die Nitrifikation des Kalkstickstoffs geht bei normaler Bodenreaktion und ausreichender Humusversorgung um so schneller vor sich, je stärker die Sorptionskraft des Bodens ist; denn um so besser werden die schädlichen Abbauprodukte des Kalkstickstoffs gebunden. *Rodenkirchen (Dresden).*

Schmalfuß, K., Über Bodenatmung. (Bodenkunde u. Pflanzenernährung. Bd. 21/22. 1940. S. 442—454.)

Wie Modellversuche ergeben haben, wird das Lignin von Bodenmikroorganismen praktisch nicht angegriffen. Als erst recht unzersetzlich können mithin die echten Humusstoffe angesehen werden. Daraus folgt, daß die Bodenatmung in erster Linie von den vorhandenen abbaufähigen Kohlehydraten (Zellulosen, Hemizellulosen, Pektinen usw.) abhängt. Das C/N-Verhältnis im üblichen Sinne ist für die Atmungsgröße belanglos. Soll dieses Verhältnis eine Bedeutung haben, so müßte es zum Ausdruck bringen, wieviel Teile assimilierbaren Stickstoffs für 100 Teile Kohlenstoff in relativ leicht abbaubarer organischer Verbindungen zur Verfügung stehen müssen, um eine optimale Zersetzung organischer Substanz im Boden zu erzielen. In weit geringerem Maße als Stickstoff beeinflussen Kali und Phosphorsäure die Bodenatmung. Die bei der Bodenatmung frei werdende Kohlensäuremenge stellt also einen recht brauchbaren Maßstab dar für den Gehalt eines Bodens an mikrobiell zersetzlicher Kohlenstoffsubstanz, wenn diese Kohlensäuremenge in Beziehung gebracht wird zum Gesamt-Kohlenstoffgehalt eines Bodens. *Rodenkirchen (Dresden).*

Stöckli, A., Der Mikrodüngungsversuch nach Sekera. (Bodenkunde u. Pflanzenernährung. Bd. 21/22. 1940. S. 287—315.)

Die Nachprüfung der Sekera-Methode erwies die hinreichende Empfindlichkeit des Aspergillus niger zur Bestimmung des Bodenvorrates

an leicht zugänglichen Phosphor- und Kaliverbindungen. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist eine befriedigende; am größten waren die Schwankungen bei Parallelen von stark sauren Böden infolge der hier auftretenden geringen Gewichte des Myzels, das sich in diesem Fall schwer ernten und reinigen läßt. Kalk im Boden fördert das Wachstum von Aspergillus niger. Als zweckmäßigste Dauer für die Bebrütung werden 3 Tage angegeben. Ein Nachteil des Verfahrens besteht darin, daß bei sehr stark phosphorsäurebedürftigen Böden durch zugesetzte Phosphorsäure infolge Festlegung nur unbedeutende oder gar keine Wachstumszunahme erzielt wird. Solche Böden erscheinen nämlich als nicht bedürftig, da ja als Maßstab der Düngebedürftigkeit das relative Myzelgewicht benutzt wird. Für diese Fälle würde das absolute Myzelgewicht, wie es die Methode von Niklas verwendet, eine bessere Beurteilung ermöglichen.

Rodenkirchen (Dresden).

Krassil'nikow, N. A. und Korenjako, A. I., Über die Methoden zur quantitativen Bestimmung der Knöllchenbakterien im Boden. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 1. 1940. S. 27—31.) [Russ.]

Verf. schlägt eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Knöllchenbakterien im Boden vor: im Erlenmeyerkolben (bzw. in einem ähnlichen Gerät) wird 25—30 ccm Nährsubstrat (Wasser, K_2HPO_4, $MgSO_4$, $Ca_3(PO_4)_2$, $FeSO_4$, 0,5—1,0% Agar-Agar) eingegossen, 10 Min. lang bei 120° sterilisiert; dann werden sterilisierte Samen ausgesät und wässerige Suspensionen des zu untersuchenden Bodens eingebracht. Am 8. bis 12. Tage nach der Aussaat erscheinen auf den Wurzeln Knöllchen; die Bestimmung erfolgt am 15. Tage. Die Methode erwies sich vorteilhafter als die von Wilson und Pohlman. *M. Gordienko (Berlin).*

Kaniwetz, I. I., Chariton, E. G. und Tulcinskaja, E. M., Ertragssteigerung bei Zuckerrüben, Hafer und Lupine durch verschieden starke Impfung des Bodens mit Trichoderma lignorum. (Mikrobiologie. Bd. 9, Folge 2. 1940. S. 143—151.) [Russisch.]

Bei Versuchen auf mittlerem Podsolboden (in im Freien eingegrabenen Kisten) verteilten sich die Erträge wie folgt: bei 3facher Dosis von Trichoderma lignorum bei Zuckerrüben 115%, bei Hafer 128% gegenüber der Kontrolle; bei 3facher Dosis von Trichoderma lignorum + Aspergillus niger bei Zuckerrüben 109% usw. Die höchste Wirkung erzielte man bei Einbringung des Präparats während der physikalischen Reife des Bodens. Der Pilz bewirkte eine bedeutende Zunahme der Festigkeit der Bodenstruktur: die Zunahme von Aggregaten von > 0,25 mm durch die 3fache Dosis betrug bei Versuchen mit Zuckerrüben 68%, bei Versuchen mit Hafer 27% usw. Als beste Norm erwies sich eine solche von 20—60 kg/ha des Präparats. Wichtig ist seine gleichmäßige Verteilung im Boden.

M. Gordienko (Berlin).

Bylinkina, W. N., Bodenmikroflora als konstitutioneller Teil des bioorganomineralischen Bodenkomplexes. (Mikrobiologie. Bd. 9, Folge 2. 1940. S. 129—141.) [Russ.]

Für die Charakteristik eines Bodens ist die Bestimmung seines „bioorganomineralischen Komplexes" wichtig (Mikroorganismen, Kolloide, Lösungen, Gase, mineralische Teile). Mit diesem Komplex steht der Gesamtstickstoff des Bodens im Zusammenhang, und er kann durch den letzteren charak-

terisiert werden. Komplexe vom Typ „saurer Funktion“ weisen die geringsten, Komplexe vom Typ „basischer Funktion“ die größten Mikroorganismenmengen auf, während die vom Typ „gemischter Funktion“ in dieser Beziehung in der Mitte stehen. In den an tierischen bzw. an pflanzlichen Resten mit hohem Eiweißgehalt angereicherten „Mikrozonen“ des Bodens entwickelt sich vorwiegend die sog. zymogene Mikroflora (Fäulnisbakterien usw.), in den an pflanzlichen Resten mit viel Lignin und Zellulose angereicherten „Mikrozonen“ dominieren Kokken und Pilze, in den durch intensive Mineralisierung der Humusstoffe und ihrer Zerfallsprodukte begriffenen Komplexen entwickeln sich stark Nitrifikatoren, Denitrifikatoren, Azotobakter, aerobe Zellulosezersetzer u. a. *M. Gordienko (Berlin).*

Reinhold, J., Noll, J. und Hausrath, E., Über die Ursachen für Mißerfolge des Dämpfens schwerer Böden. (Gartenbauwissenschaft. Bd. 15. 1941. S. 471—486.)

Die Versuche zur Klärung der Frage des Mißerfolges beim Dämpfen schwerer Böden wurden von Verff. mit zwei Lehmböden und einem Torfkompost durchgeführt, wobei Bohnen und Gurken als Versuchspflanzen dienten. Durch Zugaben von Na und Ca vor dem Dämpfen wurde die Neigung zum Verschlämmen der Böden variiert. Berücksichtigung fanden bei den Versuchen die physikalischen, nicht aber die chemischen Verhältnisse der Böden. Die durch Dämpfung hervorgerufene Verschlechterung der physikalischen Eigenschaften schwerer Böden kann durch Ca-Gaben verringert oder gar aufgehoben werden. *Röder (Berlin-Dahlem).*

Reinmuth, E., Verwechslung von Nematodeneikapseln mit Juncus-Samen. (Anzeiger f. Schädlingskunde. Jahrg. 17. 1941. S. 10.)

Bei der Untersuchung von Böden auf Nematoden können gelegentlich Verwechslungen von Zysten mit den Samen der Krötenbinse (Juncus bufonius L.) vorkommen, da letztere in Größe und Farbe eine auffallende Ähnlichkeit mit den Zysten haben, die eine hervortretende Vulva besitzen. Die Samen der Krötenbinse sind mehr oder weniger spindelförmig bis zugespitzt und von gelbbrauner, an der Spitze kastanien- bis schwarzbrauner Farbe. Die Pflanze bevorzugt zwar nasse, kalkarme Sandflächen, kommt aber auch auf lehmigen Äckern vor. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Abrosimoff, S. A. und Protassow, P. W., Zur Frage über die thermische Sterilisation des Bodens. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 3. 1940. S. 301—304.) [Russisch.]

Versuche mit verschiedenen Sterilisationsverfahren des Bodens bei der Herstellung von Nitragin zeigten, daß keines von diesen absolut sichere Resultate ergibt: bei der Nachprüfung der in Fabrik-Autoklaven bei einer Temperatur von 136° im Laufe von 4 Std. 20 Min. sterilisierten Proben (Flaschen) erwiesen sich von 134 nur 38 als wirklich steril, bei der Nachprüfung der in Laboratorium-Autoklaven bei einer Temperatur von 127° im Laufe von insgesamt 2½ Std. sterilisierten 130 Flaschen 40.

M. Gordienko (Berlin).

Sorokina, A. W., Aerobe mikrobiologische Prozesse im Boden unter den Reissaaten. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 645—652.) [Russisch.]

Im Boden unter Reissaaten (am Unterlauf des Flusses K u b a n') wurden nicht nur anaerobe, sondern auch aerobe Mikroorganismen festgestellt. Die Artzusammensetzung und Aktivität der Zellulosebakterien in solchem Boden hängt sehr von seinem agrikulturtechnischen Zustand ab: im gedüngten Boden und in dem der im ersten Jahre unter Reiskultur stehenden Felder entwickeln sich überwiegend Vibrionen und Cytophagen, im ungedüngten Boden bzw. in dem der unter langjähriger Reiskultur stehenden Feldern dagegen Myxobakterien und Schimmelpilze. Die Intensität der Nitrifikation und Zellulosezersetzung hängt vom Vegetationsstadium des Reises ab: beim Beginn und Ende der Überschwemmung, d. h. beim Aufkeimen und im Stadium der Vollreife des Reises werden diese Prozesse unterdrückt, im Bestockungsstadium und während der Blüte werden sie intensiver.

M. G o r d i e n k o (Berlin).

Messinewa, M. A. und **Gorbunowa, A. I.**, V e r ä n d e r u n g e n d e s G e h a l t s a n S t i c k s t o f f v e r b i n d u n g e n i m S a p r o p e l u n t e r d e m E i n f l u ß d e r M i k r o o r g a n i s m e n. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 685—693.) [Russisch.]

Unter aeroben Bedingungen und bei erhöhter Temperatur (28—30°) geht im Sapropel eine intensive Vermehrung von Mikroorganismen sowie eine Verstärkung der Gärung und der Spaltungsprozesse von organischen Stoffen vor sich; der Gehalt an Gesamtstickstoff setzt sich — vermutlich infolge der Denitrifikation — stark herab, lösliche Stickstoffverbindungen häufen sich nicht an. Durch eine Veränderung der Feuchtigkeits- und Aerationsbedingungen können die Stickstoffverluste vermindert und die Anhäufung von löslichen Stickstoffverbindungen begünstigt werden. Bei der Einbringung von Sapropel in stickstoffarmen Podsolboden bleibt der Stickstoffgehalt, trotz der großen Umwandlungen der organischen Masse, etwa der gleiche (Gefäßversuche). Die erzielten Resultate berechtigen zu der Annahme, daß Sapropel in der Landwirtschaft eventuell als Stickstoffdüngung verwertet werden könnte. *M. G o r d i e n k o (Berlin).*

Mikrobiologie der Gespinstpflanzen usw.

Markowa, S. S., N e u e r E r r e g e r d e s a n a e r o b e n k a l t e n W e i c h p r o z e s s e s b e i m F l a c h s. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 5. 1940. S. 464—469.) [Russisch.]

Beim sommerlichen Flachsweichen bei höheren Temperaturen (16—26°) wurde die Gegenwart von B a c. f e l s i n e u s, beim späteren Weichen bei niedrigen Temperaturen (10—15°) die Gegenwart von C l o s t r i d i u m festgestellt. Die Qualität der durch C l o s t r i d i u m erhaltenen Faser stellte sich gleich der durch B a c. f e l s i n e u s erhaltenen bzw. sie war niedriger als die letztere. Unter Laboratoriumsbedingungen erzielte man jedoch mit C l o s t r i d i u m eine bedeutende Beschleunigung des Weichprozesses. G r a n u l o b a c t e r p e c t i n o v o r u m ergab die geringste Faser-Ausbeute bei der längsten Dauer des Weichprozesses.

M. G o r d i e n k o (Berlin).

Wolfson, I. A. und **Muratowa, M. A.**, I s o l i e r u n g u n d A u s l e s e a k t i v s t e r K u l t u r e n f ü r d a s a n a e r o b e w a r m e F l a c h s w e i c h e n. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 672—677.) [Russisch.]

Es wurden ca. 150 Stämme von B a c. f e l s i n e u s isoliert, von denen 50 sich als aktiv und fähig erwiesen, sterilen Flachs ohne Kreidezusatz gut

zu erweichen, und unter nichtsterilen Bedingungen den Weichprozeß sehr bedeutend zu beschleunigen. *M. Gordienko (Berlin).*

Imschenetzki, A. A., Bestimmung der Widerstandsfähigkeit von Zellulosefasern gegen Bakterieneinwirkung. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 3. 1940. S. 245—251.) [Russisch.]

Zur Feststellung der Widerstandsfähigkeit von Textilien gegen Bakterienwirkung können aerobe und anaerobe zellulosezersetzende Mikroorganismen verwendet werden. Thermophile Bakterien zerstören unbearbeitete Leinstoffe schon im Laufe von 96 Std. fast gänzlich; die Festigkeit der Baumwolle wurde im Laufe derselben Zeit um 72,3—95,5% herabgesetzt, die der mit Antiseptika bearbeiteten Baumwolle jedoch nur um 2,1—2,7%.

M. Gordienko (Berlin).

Rotmistrow, M. N., Vergärung von pflanzlichen Materialien durch reine und elektive Bakterienkulturen thermophiler Zellulosegärung. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 5. 1940. S. 453—462.) [Russisch.]

Vergärung von feingemahlenen Maisstrünken durch reine Kulturen anaerober Zellulosebakterien zeigt keine Unterschiede von der durch elektive Kulturen. Unbearbeitetes (nur mit Häckselmaschine zerkleinertes) Roggenstroh wird weder durch reine noch durch elektive Kulturen vergoren; das in Autoklaven mit 2proz. Lauge bearbeitete Stroh (Strohpülpe) wird dagegen durch beide Kulturen vergoren. Die Pülpenausbeute aus dem Stroh stellt sich auf 42—44% bei einem Verbrauch von 100 g Lauge auf je 1 kg Stroh.

M. Gordienko (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Mulder, E. G., Über den Kupfermangel als Ursache der Urbarmachungskrankheit. (Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. 50. 1940. S. 240—264.)

Es wurden die Symptome der Urbarmachungskrankheit mit denen des Kupfermangels in Wasser- und Quarzsandkulturen und auf kranken Böden verglichen. Als Testpflanzen dienten Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, Kartoffeln und Erbsen. Bei den Getreidepflanzen waren beide Erscheinungen vollkommen identisch. Sowohl Kupfermangel wie Urbarmachungskrankheit ließen sich durch Kupferzusatz beheben. Allerdings waren auf kranken Böden erheblich größere Kupfermengen erforderlich als bei Wasser- oder Quarzsandkulturen, da dort eine Festlegung des Kupfers an Bodenbestandteilen erfolgte. Durch Ermittlung der in kranken Böden verfügbaren Kupfermengen konnte eine Korrelation zwischen dem Gehalt an aufnehmbarem Kupfer und dem Auftreten der Krankheit festgestellt werden. Bei der Festlegung des Kupfers im Boden spielen gewisse Humussubstanzen und schwefelwasserstoffbildende Bakterien eine Rolle. Eine Behandlung des Bodens mit Dampf oder Äthylalkohol, auch Düngung mit $(NH_4)_2SO_4$ an Stelle von $NaNO_3$, machen das schwerlösliche Kupfer für die Pflanzen nutzbar. Zur Bekämpfung der Urbarmachungskrankheit ist Kupfersulfat auf alkalischen, kupferarmen Böden geeignet, aber es kann die durch Manganmangel bedingte Dörrfleckenkrankheit zur Folge haben. Ein Kupferzusatz hat wahrscheinlich eine verstärkte mikrobiologische Manganfestlegung im Boden zur Folge.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Maier, W., Stippigkeit und Bormangelkrankheit bei Äpfeln. (Gartenbauwissenschaft. Bd. 15. 1941. S. 427—452.)

Die in der Literatur vorhandenen Widersprüche über den Einfluß von Bor auf die Stippigkeit der Äpfel führt Verf. einer Klärung näher, indem er nachweist, daß die als Stippe bezeichnete Krankheit nicht als eine einzige Erkrankung anzusehen ist. Er unterscheidet zwischen Stippigkeit, Lentizell-Fleckenkrankheit, Internal Cork und Drought Spot. Die Krankheitsbilder werden eingehend beschrieben, um eine Unterscheidung zu ermöglichen. Weder die Stippigkeit noch die erstmals beschriebene Lentizell-Fleckenkrankheit finden ihre Ursache im Bormangel. Internal Cork und Drought Spot dagegen sind typische Bormangelkrankheiten und können durch Düngung mit Borax oder Borsäure bekämpft werden. *Röder (Berlin-Dahlem).*

Loewel, E. L. und **Schubert, W.**, Der Einfluß der Unterlage auf die Frostwiderstandsfähigkeit verschiedener Apfel- und Pflaumensorten. (Gartenbauwissenschaft. Bd. 15. 1941. S. 453—462.)

Der im Jahre 1939/40 herrschende starke Frost gab Gelegenheit, das Verhalten von Apfel- und Pflaumensorten auf einer Anzahl Typen von East Malling-Unterlagen zu prüfen. Die Beobachtungen ergaben, daß bei Äpfeln mit der Zunahme der Wüchsigkeit der Unterlage die Frostempfindlichkeit steigt. Bei Pflaumen dagegen ist die Sorte und nicht die Unterlage von maßgeblichem Einfluß auf den Grad der Frostresistenz.

Röder (Berlin-Dahlem).

Adametz, L., Vierzigjährige Erfahrungen über frost- und schorfresistente Sorten im Altvatergebiet. (Gartenbauwissenschaft. Bd. 15. 1941. S. 486—508.)

Die Beobachtungen über die Fusikladium- und Frostwiderstandsfähigkeit einer großen Anzahl deutscher und ausländischer (vor allem russischer) Apfelsorten wurden im Tesstal gemacht, dessen mittlerer Teil 350—450 m über dem Meeresspiegel liegt und dessen klimatische Lage noch erheblich ungünstiger ist, als es die Höhe vermuten läßt. Von den im Laufe der Jahre herangezogenen Bäumen erwiesen sich vor allem die russischen Sorten als sehr frostwiderstandsfähig. Von den deutschen Sorten seien genannt: Apfel von Lunov, Danziger Kantapfel, Große Kasseler Renette und Transparent von Croncels. Gleichzeitig schorfresistent war der Apfel von Lunov. Das gleiche gilt für die Oberrieder Glanz-Renette. Die Kasseler Renette zeigte eine hohe Schorfanfälligkeit. Unter den ausländischen erwiesen sich vor allem zwei dänische Sorten als frost- und fusikladiumfest.

Röder (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und Viren.

Müller, K. O., Die Erfolge der Züchtung phytophthoraresistenter Kartoffelsorten. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 17—18.)

Verf. berichtet, daß in den Vorprüfungen 1940 bereits eine Reihe von Sorten günstig beurteilt wurden, die auch phytophthora-resistent sind. Drei Sorten, Erika, Frühnudel und Robusta, die sich als phytophthora-resistent A erwiesen haben, sind auf die Reichssortenliste gesetzt worden. Nachdem auf die wichtigsten Etappen der Untersuchungen über Phytophthora-Resistenz eingegangen ist, betont Verf. ausdrücklich, daß die Resistenz der angeführten

Sorten sich nur auf die Biotypengruppe A bezieht, daß aber bereits Formen vorliegen, die gegenüber allen bisher bekannt gewordenen biologischen Rassen des Krautfäule-Erregers resistent sind. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Wilcox, M. S., Diaporthe vaccinii, the ascigerous stage of Phomopsis, causing a twig blight of blueberry. (Phytopath. Vol. 30. 1940. p. 441—443, 2 figs.)

Verf. bringt den Nachweis, daß die Welke von Vaccinium corymbosum tatsächlich durch Phomopsis vaccinii verursacht wird. Es wird über das Perithecien-Stadium von Phomopsis berichtet und die Identität mit Diaporthe vaccinii gezeigt.

Winkelmann (Münster i. W.).

Weiß, F., Anthracnose and Cladosporium stem spot of peony. (Phytopath. Vol. 30. 1940. p. 409—417, 1 fig.)

Eine Krankheit, die sich in roten Flecken auf Stengeln, Blättern und Blüten von Paeonien äußert, ist zwar weit verbreitet, tritt aber selten in stark schädigender Form auf. In diesen Fällen allerdings wird durch Mißbildung der Pflanze der Wert stark herabgesetzt. Bisher wurde meist Cladosporium paeoniae als Erreger der Krankheit angesehen. Bei seinen Untersuchungen konnte Verf. feststellen, daß Gloeosporium fructigenum von Paeonien und von Rubus Paeonien als Wundparasiten infizieren können. Pezizella lythri und ein weiterer Pilz erwiesen sich ebenfalls als pathogen bei Paeonien. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Schmitt, C. G., Cultural and genetic studies on Ustilago zeae. (Phytopath. Vol. 30. 1940. p. 381—390.)

Bei den Versuchen keimten die Sporen von Ustilago zeae in 12—24 Std. auf Czapeks Agar bei 25—30° C, während bei niedrigeren Temperaturen und Behandlung mit ultravioletten Strahlen die Keimung verzögert wurde. Chlamydosporen zeigten sofort nach der Ernte gute Keimfähigkeit. Die Pflanzen konnten in allen Entwicklungsstadien infiziert werden, solange noch meristematisches Gewebe vorhanden war und die Temperatur nicht unter 21° C lag. Am besten war die Infektion bei Temperaturen über 27° C. Die Bildung von Mutationen wurde durch die Art des Nährbodens beeinflußt. Sie wurden nicht hervorgerufen durch ultraviolette und X-Strahlen sowie durch Temperaturen nahe dem Abtötungspunkt. Versuche, Chlamydosporen in Reinkulturen zu ziehen, mißlangen.

Winkelmann (Münster i. W.).

Tapke, V. F., Studies on the Natural Inoculation of Seed Barley with Covered Smut (Ustilago hordei). (Journ. Agric. Res. Vol. 60. 1940. p. 787—810.)

Angeregt durch unzureichende Infektionsmethoden bei der Prüfung von Gerstensorten auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen den gedeckten Gerstenbrand (Ustilago hordei) suchte Verf. die Biologie des Krankheitserregers weiter zu klären. Es gelang ihm, hierbei festzustellen, daß eine Infektion der Samen bereits während der Entwicklung auf dem Halm erfolgt und nicht erst nach der Ernte. Das die Sporenmassen umgebende Häutchen bleibt nicht, wie bisher angenommen, bis zur Ernte geschlossen, sondern reißt vorher auf, die Sporen werden frei und gelangen auf gesunde Ähren. Bei genügend zusagenden klimatischen Bedingungen keimen die Brandsporen aus und dringen bis zum Perikarp vor. Das Pilzmyzel konnte hier vielfach

nachgewiesen werden. Derselbe Vorgang konnte bei genügender Feuchtigkeit auch noch nach der Ernte beobachtet werden. Weitere Versuche wurden zur Prüfung des notwendigen Feuchtigkeitsgehalts für eine Infektion durch die Brandsporen durchgeführt, wobei das Saatgut künstlich infiziert worden ist. Angaben über die relative Luftfeuchtigkeit fehlen jedoch. Das optimale Ergebnis war 87,5% befallenen Saatgutes in einem Monat bei 20° C. Gleichzeitig kamen Bekämpfungsversuche mit Kupferkarbonat und Formaldehyd zur Anwendung, wobei die Formalinwirkung gute Ergebnisse zeitigte.

Röder (Berlin-Dahlem).

Straib, W., Zur Kenntnis des Gelbrostes von Weizen und Gerste. (Kranke Pflanze. Bd. 18. 1941. S. 1—7.)

Bei Weizen und Gerste kann durch einen etwa 4 Wochen anhaltenden Gelbrostbefall eine Ernteminderung von 15—25% eintreten. Der Weizen wird hauptsächlich auf schweren stickstoffreichen Böden geschädigt. Beim Gelbrost ist eine starke Spezialisierung zu beobachten, er besteht aus zahlreichen Biotypen (in Deutschland mehr als 24), die sich hinsichtlich ihrer Pathogenität verschieden verhalten. Diese Eigenschaft wirkt sich dahin aus, daß dieselbe Weizensorte in verschiedenen Gegenden unterschiedlich geschädigt wird oder sogar resistent erscheinen kann. Auftreten und Verbreitung der Gelbrostrassen sind ökologisch bedingt. Es konnten Rassen mit hohem und solche mit niedrigem Temperaturmaximum für die Sporenkeimung festgestellt werden. Auch die Art der Keimung ist unterschiedlich. Für Entstehung und Verlauf der Gelbrost-Infektion sind Umweltfaktoren, besonders Temperatur, von Einfluß.

Bekämpfungsmöglichkeiten bieten sich in der Anwendung geringer Stickstoff- und hoher Kaligaben. Den wirksamsten Schutz vor Gelbrostschäden sieht Verf. im Anbau von Sorten, die eine hohe Resistenz aufweisen. Die Züchtungsmöglichkeiten zur Erzielung resistenter Sorten erscheinen bei dieser Rostart aussichtsreicher als bei anderen Rostarten.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Rodenhiser, H. A., and Taylor, J. W., Effects of soil type, soil sterilization, and soil reaction on bunt infection at different incubation temperatures. (Phytopath. Vol. 30. 1940. p. 400—408, 2 figs.)

Verff. konnten feststellen, daß der Boden und auch die Temperatur einen wesentlichen Einfluß auf den Befall mit Tilletia levis haben. Bei 10 und 15° C war der Befall in zwei Lehmböden bei den Sorten Marquis und Thatcher etwa gleich. Bei 5° C dagegen waren bei der Sorte Marquis 33 und bei der Sorte Thatcher 42,2% mehr Brand, je nach dem verwendeten Boden, vorhanden. Die Ergebnisse bei anderen Böden waren wiederum anders. Die Sterilisation hatte in einem Falle eine Erhöhung, in anderen eine Verminderung des Befalls zur Folge. Der Einfluß der Bodenazidität auf die Höhe des Befalls war bei den einzelnen Böden zwar etwas verschieden, doch war eindeutig zu erkennen, daß bei p_H unter 5 der Befall am geringsten war, während bei p_H über 7 eine wesentliche Steigerung nicht mehr eintrat.

Winkelmann (Münster i. W.).

Goldin, M. I., Die Mosaikkrankheit der Tomaten in Gewächshäusern und Maßnahmen zu ihrer Bekämpfung. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 733—738.) [Russisch.]

Versuche zeigten, daß die Infektion der Pflanzen durch den Boden (und zwar durch die von den Wurzeln der kranken Pflanzen ausgeschiedenen

Viren) im Laufe der Vegetationsperiode als sehr wahrscheinlich anzusehen ist. Weiter kann Virus in die Tomatenfrüchte eindringen, die sich nach der Infektion der Pflanze entwickelten. Chlorpikrin in einer Konzentration von 0,5—4,0 ccm je 1 kg Boden bei einer Wirkungsdauer von 48 Std. inaktiviert die Viren des Tomatenmosaiks nicht genügend. Bei Sterilisation des Saatgutes durch doppelte Beizung kann die Wirkungsdauer von 1proz. Permanganatlösung bis zu 30 Min. verlängert werden. Am wirksamsten erwies sich die thermische Sterilisation des Bodens. *M. Gordienko (Berlin).*

Jagger, I. C., and Whitaker, Th. W., The inheritance of immunity from mildew (Bremia lactucae) in lettuce. (Phytopath. Vol. 30. 1940. p. 427—433.)

Verff. halten es für wahrscheinlich, daß es nicht 5, sondern 6 oder 7 physiologische Rassen von Bremia lactucae gibt. Die Vererbung der Immunität gegen die physiologische Rasse 5 wurde eingehender untersucht. Sie hängt von einem dominanten Gen ab. Immunität findet sich vor allem bei primitiveren Formen von Salat, die nur lockere oder keine Köpfe bilden. Die Bildung von physiologischen Rassen von Bremia lactucae erfolgt wahrscheinlich durch Mutation.

Winkelmann (Münster i. W.).

Tierische Schädlinge.

Heinze, K. und Profft, J., Über die an der Kartoffel lebenden Blattlausarten und ihren Massenwechsel im Zusammenhang mit dem Auftreten von Kartoffelvirosen. (Mitt. a. d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch., Heft 60. 1940. 164 S.)

In Deutschland werden auf Kartoffeln verschiedene Blattlausarten angetroffen, deren Morphologie, Entwicklung, Lebensgeschichte, Verbreitung und Futterpflanzen kurz behandelt werden. Bedeutung für die Virusausbreitung haben nur Myzodes persicae und gelegentlich Aulacorthum pseudosolani. Eine Bestimmungstabelle gibt über die verbreitetsten Blattlausarten Auskunft. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen wird der Massenwechsel der Blattläuse an der Kartoffel in einer Abbaulage (Berlin-Dahlem) und in einer Hochzuchtlage (Dramburg, Ostpommern) für die Jahre 1936—1938 behandelt. Da das Klima in Ostpommern kühler und feuchter ist als in Berlin, verläuft nicht nur die Vermehrung am Winterwirt und damit der Zuflug zur Kartoffel, sondern auch die am Sommerwirt einsetzende Entwicklung zögernder als in der Umgebung Berlins. Unter den biologischen Faktoren spielen als wirksame Blattlausvernichter besonders Coccinelliden, Chrysopiden, Syrphiden, parasitische Hymenopteren und Pilzkrankheiten eine Rolle. Erstere sind wiederholt mit gutem Erfolg zur biologischen Bekämpfung eingesetzt worden. Sie haben in Berlin-Dahlem 1936 gemeinsam mit den Schlupfwepen den Massenwechsel der Blattläuse stark beeinflußt. Im folgenden Jahr stand der Massenwechsel mehr unter dem Einfluß des Klimas, während 1938 eine kombinierte Einwirkung biologischer und klimatischer Faktoren an beiden Orten beobachtet wurde. Das Auftreten der einzelnen Insektengruppen unterliegt zuweilen starken Schwankungen, die bei den Coccinelliden durch Zuwanderungen noch beeinflußt werden können. Ebenso zeigten die einzelnen Blattlausarten starke Befallsunterschiede. Dennoch übertraf der Dahlemer Befall den Dramburger in beiden Jahren um das 250—300fache. So erklärt es sich, daß Dahlem ein charakteristisches Beispiel

für eine Abbaulage ist, während Dramburg sich hervorragend zur Saatgutvermehrung eignet. Auch das Auftreten geflügelter Blattläuse war in Dahlem größer als in Dramburg. Hinsichtlich des Pflanztermins haben die am ehesten aufgelaufenen Pflanzungen den höchsten Blattlausbefall. Besonders war es Myzodes persicae, welche bei den vorgekeimten Pflanzen überwog, während die Besiedelung mit Doralis rhamni viel zögernder erfolgte. Die Ansteckungsgefährdung ist in den Abbaulagen bei den früheren Pflanzungen daher größer als bei den späteren, in Hochzuchtlagen werden aber so günstige Bedingungen, wie sie anfangs herrschen, später nicht mehr erreicht, da M. persicae erst an den nach dem 15. Juni auflaufenden Pflanzungen regelmäßiger anfällt. Schließlich werden noch Einzelheiten aus der Lebensgeschichte der Pfirsichblattlaus, namentlich Fragen der Überwinterung, besprochen. Die umfangreiche Veröffentlichung schließt mit einem reichhaltigen Schriftenverzeichnis ab. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Jost, Fr., Lebensweise und forstliche Bedeutung des Tannentriebwicklers (Cacoecis murinana Hb.). (Forstwiss. Centralbl. Jahrg. 62. H. 7. 1940. S. 143—154.)

Der Tannentriebwickler steht unter den Bestandsverderbern der Weißtanne in Deutschland mit an erster Stelle. Die Eier werden auf der Oberseite der Tannennadeln abgelegt, Anfang bis Mitte Juli. Eizahl 2—50 Stück. Die Räupchen schlüpfen im Freien nach 10—14 Tagen. Während der ersten 3 Lebenstage der Jungräupchen wird der Dotter nahezu verbraucht und der Abschluß in einem Gespinstbau in Zweigrissen, unter Knospenschuppen usw. vollzogen. Ohne jede Nahrungsaufnahme häuten sich die Tiere, etwa 5—6 Tage nach dem Schlüpfen. Im nächsten Frühjahr verlassen die Räupchen zugleich mit dem Austreiben der Tannenknospen ihr schützendes Versteck und wandern zu den Zweigspitzen. Das Eindringen in die Knospen dauert bei günstigem Wetter nur wenige Stunden. Der Fraß beginnt erst im Innern der Knospe, daher ist die Anwendung von Fraßgiften zwecklos. Auch die Kontaktgifte dürften zu diesem Zeitpunkt wenig wirkungsvoll sein, da die Räupchen selbst während des Eindringens durch ihr Baugespinst gut geschützt sind. Die früher austreibenden Blütenknospen wurden bei Freiburg i. Br. zu 60% zerstört, die Triebknospen nur zu 10—15%. Die Wicklerraupen des III. und IV. Stadiums fressen zwischen den schnell in die Länge wachsenden jungen Tannennadeln. Sie machen hier bis zu ihrer Verpuppung noch vier Häutungen durch. Vom Beginn des Einbohrens in die Knospe bis zum letzten Entwicklungsstadium sind die Raupen immer von schützenden Hüllen umgeben, die Schutz gegen Berührungsgifte verleihen. Die Verpuppung findet Mitte Juni in den Kronen, am Stamm und in der Bodenstreu statt. Die Puppenruhe dauert etwa 14 Tage. Die Falter schlüpfen Anfang Juli. Die Zeit des stärksten Schwärmens ist eine Stunde vor Mitternacht, besonders in der Wipfelregion. Gefütterte Tiere legten im Mittel 105 Eier ab, ungefütterte 64. Fraßpflanzen sind folgende Tannenarten: Abies alba, balsamia, sacchalinensis arizona, concolor, grandis, ferner Picea pungens, Pinus sabineana, Larix decidua. Zum Problem des Massenwechsels hat sich herausgestellt, daß gerade die Übergangszeit vor der Diapause zum aktiven Leben im April und Anfang Mai eine Zeit größter klimatischer Sterblichkeit darstellt. — Natürliche Feinde sind: Schlupfwespen (72%), weniger Tachinen, ferner verschiedene Vögel. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Dewez, W. J., Het optreden van het stengelaaltje (Tylenchus dipsaci) in Limburg. (Tijdschr. over Plantenziekt. Vol. 46. 1940. p. 194—204.)

Die Stockkrankheit des Roggens tritt namentlich im Osten der Provinz auf den humusarmen Böden auf, die einen hohen Anteil an feinen Sanden haben. Bevorzugt werden Flächen, welche die Neigung haben, sich zu verdichten oder aber strukturlose Sandgründe und kieselhaltige Sandkuppen. Etwa 80% der verseuchten Flächen haben einen Säuregehalt unter p_H 5. Als günstige Vorfrüchte gelten allgemein Rüben, Weizen, Lupinen, Seradella, Spörgel und Weißklee. Hafer und Roggen sind ungünstig, während über den Anbau von Kartoffeln, Erbsen, Kohlrabi, Gerste, Mais, Bohnen, Stoppelrüben und Rotklee die Ansichten auseinandergehen. Von Unkräutern wird Hahnenfuß angegriffen. Kornblumen, Sauerampfer, Stiefmütterchen, Windhalm und wilder Spörgel treten auf den verseuchten Flächen zwar in beträchtlicher Menge auf, doch konnten sie als Älchenträger bisher nicht nachgewiesen werden. Düngung mit kurzem Stallmist und (oder) Gründüngung wird als günstig angesehen. Teils wird dem Flach-, teils dem Tiefpflügen das Wort geredet. Ebenso herrscht über frühes oder spätes Säen keine einheitliche Auffassung. Es erklärt sich dies aus der Tatsache, daß ein loser, humusarmer Boden eine andere Behandlung verlangt als ein fester, möglichst durchlässiger Klei- oder ein leichter Lößboden. Flaches Säen wird allgemein empfohlen. Behandlung des Bodens mit Kalisalzen, Kopfdüngung mit Kalkstickstoff und Ausstreuen von Kalk kommen als vorbeugende Bekämpfungsverfahren in Betracht. In Betrieben mit starkem Älchenauftreten sät man den widerstandsfähigen Ottersumschen Roggen im Gemenge mit Petkuser Roggen, doch ist es notwendig, stets frische Saat von bekannter Herkunft zu beziehen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Van Beekom, C. W. C., Enkele opmerkingen naar anleiding van een onder de uientelers gehouden enquête betreffende het optreden van kroefziekte Tylenchus dipsaci Kühn. (Tijdschr. over Plantenziekt. Vol. 46. 1940. p. 205—207.)

Die Älchenkrankheit der Zwiebeln wird in Holland als „kroefziekte" (Südholland und Seeland) oder als „mop" oder „Bolbroek" (Nordholland) bezeichnet. Mehrfach ergab sich, daß die Silberzwiebel gegenüber Älchen zwar auch anfällig ist, aber trotzdem noch mit Erfolg auf solchen Böden angebaut werden kann, auf denen andere Zwiebelsorten nicht mehr gedeihen. Selbst bei einem weiträumigen Fruchtwechsel kann die Krankheit 15—20 Jahre seit dem letzten Zwiebelanbau noch auftreten. In diesen Fällen hatten die Älchen Ackergauchheil (Anagallis arvensis) und Vogelmiere (Stellaria media) befallen. Von diesen Unkräutern gingen sie, wie Versuche ergaben, ohne weiteres auf Zwiebeln über und umgekehrt. Als sehr günstig erwies sich der Anbau von Zichorie, während Erbsen und zuweilen auch Flachs ungünstige Vorfrüchte waren. Für das Auftreten der Krankheit scheinen schwere und sehr schwere Kleiböden besonders geeignet zu sein. Die Witterung ist nicht ohne Einfluß auf den Befallsgrad. Namentlich leidet die Pflanze sehr stark, wenn es zur Zeit der Bildung des zweiten Blattes zu einem Stillstand im Wachstum kommt.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Schuiling, A. L., Enkele waarnemingen over het actieve verplaatsingsvermogen van de Rhododendron-

wants Stephanitis Rhododendri (Horvath). (Tijdschr. over Plantenziekt. Vol. 46. 1940. p. 83—86.)

Die Wanze ruft auf den Blättern von Rhododendron gelbgrüne Sprenkel hervor. Obwohl der Schädling gut entwickelte Flügel hat, soll er sich nur laufend von einer Pflanze zur anderen bewegen. Verf. beobachtete jedoch, daß die Wanzen namentlich am Nachmittag bei 20° C und mehr sehr aktiv sind und gut fliegen können. Die im Laboratorium gemachte Feststellung bestätigte sich auch im Freiland. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Ten Houten, J. G., Iets over de bestrijding van de bessenbladwesp (Pteronus ribesii Scop.). (Tijdschr. over Plantenziekt. Vol. 46. 1940. p. 146—150.)

Gegen die Stachelbeerblattwespe wurden vergleichende Versuche mit Derrispräparaten durchgeführt. Spritzen mit Präparaten, die einen Rotenongehalt von 1 : 5000—1 : 10 000 hatten, war von vollem Erfolg begleitet. Die Abtötung der Schädlinge verlief etwas schneller als bei Verwendung von Derris-Stäubemitteln. Gegenüber Bleiarsenat (0,3% + Kalkmilch) trat aber bei Verwendung von Derrismitteln auch eine weit sichere Wirkung zutage. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Roepke, W., De rijpingsvreterij van den ooftboomspintkever Scolytus mali Bechst. (Col. Scolytidae). (Tijdschr. over Plantenziekt. Vol. 46. 1940. p. 168—173.)

Junge Obstbaumsplintkäfer machen einen Reifungsfraß durch. Sie bohren hierbei an der Basis der Triebe ein Loch. Nach etwa 4 Tagen verlassen sie diese Stellen. Die geschädigten Triebe welken und fallen schließlich ab. Der an 3 jungen Kirschbäumen beobachtete Befall war auf in der Nähe stehende tote Apfel-, Birn- und Pflaumenbäume zurückzuführen, deren Rinde von den geschlüpften Käfern stark durchlöchert war. Die Muttergänge sind meist in Richtung der Gefäßbündel angelegt, es kommen aber auch andere Bildungen zustande. Als Parasit wurde Elachistus leucogramma Rtzb. (Chalcid.) angetroffen, der in 2—5% der Käfer auftrat. Angeraten wird das Entfernen und Verbrennen aller toten oder absterbenden Obstbäume. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Jancke, O., Der Gartenlaubkäfer (Phyllopertha horticola L.). (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 10—12.)

Der besonders an Obstbäumen auftretende Käfer richtete in einer Weinbauanlage einen ungewöhnlich starken Blattfraß an. Die Bekämpfung erfolgte durch Abschütteln der Käfer. Gegen Nirosanstaub waren die Käfer sehr anfällig. Ihr Tod trat wesentlich schneller ein als bei einer Behandlung mit Arsen. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Schlumberger, O., Der Maiszünsler (Pyrausta nubilalis) als Hopfen- und Hanfschädling. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 18—20.)

In Hopfengärten treten Schädigungen durch den Maiszünsler anscheinend nur auf, wenn sich die Hopfenernte durch Witterungsverhältnisse verzögert. Eiablage und Einbohren der Raupen in die Triebe erfolgt in der Regel in den Blattachseln. Die Dolden verfärben sich rötlich. Ihre Ausbildung nach Menge und Güte wird durch den Befall stark beeinträchtigt. Zur Bekämpfung kommt das Abschneiden der Ranken unmittelbar über dem

Erdboden nach dem Pflücken und sorgfältiges Verbrennen in Frage. Beim Hanf werden die Stengel brüchig und somit zur Fasergewinnung unbrauchbar. Der Schädling war bis in die Blütenregion der weiblichen Pflanzen zu beobachten. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Mühle, E., Die Gehäuseschnecke Vallonia pulchella O. F. Müller als Schädling des Grassamenbaues. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 13—14.)

Außer Agriolimax agrestis tritt zuweilen auch die Gehäuseschnecke Vallonia pulchella an Glatthafer, Goldhafer und Wiesenschwingel auf. Hierbei vergilben die äußeren Blätter der Triebe und kräuseln sich, während das Herzblatt in den meisten Fällen vollkommen gesund bleibt. Die Schnecken leben versteckt tief am Grunde der Pflanzen. Sie sind 2—3 mm groß. Ihr Gehäuse ist fast kreisförmig, blaß-hornfarben. Verf. empfiehlt die zur Schneckenbekämpfung allgemein geeigneten Mittel, z. B. Kainit, in einer Aufschwemmung in den gefährdeten Bestand zu bringen, so daß die in den Boden eindringende Flüssigkeit die Schnecken erreichen kann. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Escherich, K., Über die forstliche Bedeutung der Schlupfwespen. (Forstwiss. Centralbl. Jahrg. 62. H. 5. 1940. S. 97—105.)

Grundsätzliche Erörterungen über die Einwirkung der Schlupfwespen auf den Massenwechsel der Forstschädlinge. Die Schlupfwespen haben ihre eigenen Gesetzlichkeiten und Abhängigkeiten von biotischen und abiotischen Faktoren und können dementsprechend einen ganz anderen Verlauf nehmen als die Gradationen ihrer Wirte. In bezug auf die allgemeine Erfassung des Insektenbestandes übertreffen die Schlupfwespen wesentlich die Tachinen (Raupenfliegen). Das Hauptgewicht bei der Beurteilung über die forstliche Bedeutung der Schlupfwespen ist auf ihre stetige, meist unsichtbare Tätigkeit zu legen. Auch unter den die Krisis einer Schädlingsgradation verursachenden Faktoren kommt den Schlupfwespen eine mehr oder weniger große Bedeutung zu. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Speyer, W., Beitrag zur Frage der Arsennachwirkungen bei Raupen. (Anz. f. Schädlingskunde. Jahrg. 16. H. 2. 1940. S. 14—15.)

Die in Mittelnkirchen seit 1930 regelmäßig durchgeführten Spritzungen mit Arsenbrühen haben die dort heimische Frostspannerpopulation bisher an Widerstandskraft gegen Gifte nicht verändert. Dieses Ergebnis ist bei der sonst beobachteten Bereitwilligkeit des Kleinen Frostspanners zur Bildung von Lokalrassen besonders bemerkenswert. Es besteht demnach zunächst keine Veranlassung, bei der Durchführung von Arsenspritzungen allmählich ansteigende Konzentrationen zu wählen. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Lindner, E., Über die Tachinen aus zwei Nonnenfraßgebieten. (Anz. f. Schädlingskunde. Jahrg. 16. H. 2. 1940. S. 20—21.)

Aufzählung von Nonnenparasiten (Dipteren) aus eingesandten Raupen der Rominter Heide und aus Coburg. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Gäbler, H., Unterscheidungsmerkmale der Tönnchen der Nonnentachine Parasetigena segregata Rdi. und der Kieferneulentachine Panzeria rudis Fall. (Forstwiss. Centralbl. Jahrg. 62. H. 1. 1940. S. 10—15.)

Die Tönnchen der beiden forstlich wichtigen Raupenfliegen P. segregata Rond. und P. rudis werden vergleichsweise gegenübergestellt. Abbildungen der hervorstechenden Merkmale. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Eichler, W., Die wirtschaftliche Bedeutung der Mallophagen (Haarlinge und Federlinge). (Anz. f. Schädlingskunde. Jahrg. 16. H. 3. 1940. S. 32—36.)

Die Bionomie verschiedener Haarlinge und Federlinge unter Berücksichtigung möglicher Krankheitsübertragungen auf die Wirtstiere wird dargestellt. Die Schadwirkung der Mallophagen reicht nicht an diejenige mancher anderer Ektoparasiten heran. Trotzdem können bei Nichtbeachtung mit der Zeit beträchtliche Schäden entstehen. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Spoon, W., Stuiven en spouten met Derris tegen de Vlasthrips. (Tijdschr. over Plantenziekt. Vol. 46. 1940. p. 157—162.)

Derrispräparate kamen als Spritz- und Stäubemittel zur Anwendung. Die Spritzflüssigkeit hatte einen Rotenongehalt von 1 : 10 000. Sie wurde zweimal in einer Menge von 500 l, zweimal in einer Menge von 1000 l ausgebracht, so daß 2 bzw. 4 kg Derrispulver je Hektar erforderlich waren. In der Staubform, die einen Rotenongehalt von 1 bzw. ¾% hatte, wurde das Mittel beim erstenmal in einer Menge von 25 kg, beim zweitenmal in einer Menge von 50 kg je Hektar verstäubt. Der Bedarf an Derrispulver betrug für die zweimalige Behandlung in diesem Falle 15 bzw. 11—12 kg. Das Bestäuben hat sich gegenüber dem Spritzverfahren als günstiger erwiesen. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Körting, A., Zur Bekämpfung der Möhrenfliege (Psila rosae F.). (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 9—10.)

Versuche des Jahres 1940 ergaben, daß Zwischensaat von Porree oder Zwiebeln sich in keinem Falle für die Möhren befallsmindernd auswirkte. Auslegen von Naphthalin auf Dachpappe vermindert den Befall durch die Möhrenfliege zwar weitgehend, aber nicht in befriedigendem Maße. Dagegen verlieren Möhren nach voraufgegangenem, öfters breitwürfig durchgeführtem Ausstreuen von Naphthalin ihren unangenehmen Beigeschmack etwa 2 Monate nach der letzten Behandlung. Die Kosten einer solchen Naphthalinbehandlung betragen bei 10maliger Anwendung (40 g je Quadratmeter und Behandlung) 16 Rpfg je Quadratmeter. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Nolte, H. W., Kann der Puppenräuber (Calosoma sycophanta L.) eine Schädlingsplage beendigen? (Forstwiss. Centralbl. Jahrg. 62. H. 6. 1940. S. 135—138.)

Der Puppenräuber kann bei der Bekämpfung der Waldschädlinge gute Dienste leisten. Allein ist er hierzu nicht in der Lage. Nur bei künstlicher Vermehrung und bei künstlichem Einsatz wurden Erfolge erzielt. Die Biologie ist kurz folgende: Die Käfer erscheinen Anfang Juni. Bald hierauf findet die Eiablage in Gruppen von 1—5 Stück 2—2,5 cm tief im Boden statt. Die Begattung muß im Laufe des Sommers mehrfach wiederholt werden. Zahl der Eier 100—653 in einem Sommer. Die Embryonalentwicklung dauert bei Sommerwetter 5—6 Tage. Die frisch geschlüpften, 1 cm langen Larven gehen sofort auf Nahrungssuche (verschiedene Raupen und Puppen). Die Larven häuten sich zweimal nach 3 und 3 Tagen und gehen nach weiteren 7 Tagen, also nach insgesamt 13 Tagen Larvenzeit zur Verpuppung in die

Erde. Die Puppenruhe dauert im Durchschnitt 14 Tage. Die Jungkäfer bleiben jedoch bis zum Frühjahr in der Puppenhöhle. Die Altkäfer fressen bis Ende Juli, Anfang August und begeben sich dann zur Überwinterung in die Erde. Mit dieser Lebensweise ist der Puppenräuber außerordentlich stark an die Biologie der Nonne und des Schwammspinners angepaßt. Ein Käfer fraß 235—336 Nonnenraupen und -puppen.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Verschiedenes.

Jegorowa, A. A., Untersuchungen der Darmmikroflora bei arktischen Tieren. (Mikrobiologie. Bd. 9, Folge 1. 1940. S. 59—64.) [Russisch.]

Untersuchungen des Darms bei arktischen Tieren (Weißbär, Walroß, Erygnatus barbatus Fabricius u. a.), die sofort nach deren Tod vorgenommen wurden, zeigten in diesem die Gegenwart von Kokken, Sarcinen, Spirillen, Spirochäten, sporentragenden und sporenlosen Bakterien, Aktinomyceten und Schimmelpilzen an. Auch wurden einige Formen von Darmstäbchen isoliert (Bact. coli communis anindolicum, Bact. coli communior, Bact. coli communior anindolicum). Die isolierten Bakterien besitzen lipolytische, proteolytische und amylolytische Eigenschaften.

M. Gordienko (Berlin).

Martini, E. und Hundertmark, A., Über die Bedeutung kleinklimatischer Feststellungen in Haus und Stall und im Freien für die Schädlingsbiologie. (Anz. f. Schädlingskunde. Jahrg. 16. H. 9. 1940. S. 97—101.)

Die Untersuchungen bestätigen, daß die Art der Wohnräume, ihre kleinklimatische Beschaffenheit die Anwesenheit bzw. Abwesenheit der Anophelen ausschlaggebend bestimmt, und zwar im Zusammenhang mit den Anforderungen der örtlichen Anopheles-Arten und -Rassen. Von besonders großer Einwirkung auf die Wahl des Aufenthaltsorts durch die Anophelen ist die relative Luftfeuchtigkeit. Für Anopheles maculipennis befindet sich sowohl im Sommer wie im Winter die „Lieblingsluftfeuchtigkeit" im Bereich zwischen 89 und 97%. Während eine 100proz. relative Luftfeuchtigkeit die Anophelen zum Verlassen ihres jeweiligen Aufenthaltsorts veranlaßt, um eine weniger große Feuchtigkeit aufzusuchen, ist dergleichen bei 80% nicht zu beobachten. Jedoch werden Orte mit 70proz. Luftfeuchtigkeit als zu trocken bereits stark gemieden.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Jost, Fr., Der große Buntspecht (Dryobates major pinetorum Brehm) als Nesträuber bei Höhlenbrütern. (Anz. f. Schädlingskunde. Jahrg. 16. H. 1. 1940. S. 6—8.)

Sowohl für den Raub erwachsener Vögel, wie für Einbrüche in verschiedene Nester durch den großen Buntspecht liegen Beweise vor. Vernichtet wurden zahlreiche Blaumeisen, auch Kleiber, Buchfinken, Fliegenschnäpper. Meisennester, auch Berlepsche Nisthöhlen wurden von dem Specht aufgemeißelt, um zu den Jungen gelangen zu können.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Abgeschlossen am 11. August 1941.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 8|10.
Ausgegeben am 10. Oktober 1941.

Ergebnisse bei der bakteriologischen Untersuchung aufgeschütteter Bodenprofile.

[Aus dem Landwirtschaftlich-bakteriologischen Institut der Eidgen. Techn. Hochschule in Zürich.]

Von **M. Düggeli.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

Die auf Grund durchgeführter bakteriologischer Untersuchungen gewonnene Erfahrung lehrt, daß in einem unbeeinflußten Boden mit zunehmender Tiefe die nachweisbare Spaltpilzflora in der Regel rasch abnimmt, so daß wenige Meter unter der Erdoberfläche keine oder nur noch relativ wenige Bakterien mehr im Gramm nachweisbar sind. Diese Beobachtung ist durch das Eintreten ungünstiger werdender Lebensbedingungen mit zunehmender Bodentiefe erklärlich. Es ist aber zu erwarten, daß durch das Einlagern von Material, das sich durch vorteilhafte physikalische und chemische Eigenschaften auszeichnet, Störungen in der zahlenmäßigen Abnahme der feststellbaren Bodenbakterien hervorgerufen werden können. Einen solchen Fall konnte der Verf. vor Jahren beim Vordringen des Regenwurmes in bedeutende Bodentiefen nachweisen, indem sich die unmittelbare Umgebung der Wurmröhren als viel reicher an Vertretern der verschiedenen Bakteriengruppen erwies, als dies beim Boden der nämlichen Tiefe, in einiger Entfernung entnommen, der Fall war[1]).

Als im Januar 1938 bei Straßenerweiterungsbauten auf der sog. Platte in Zürich-Fluntern in der Nähe des Anatomie-Gebäudes der Universität die vorhandenen künstlichen Böschungen zurückversetzt und teilweise beseitigt wurden, bot sich Gelegenheit, verschiedenen Bodenschichten, die schon durch ihre physikalische und chemische Beschaffenheit leicht unterscheidbar waren, Proben zu entheben und der bakteriologischen Untersuchung entgegenzuführen. Wie die eingezogenen Erkundigungen ergaben, wurden die freigelegten Bodenprofile anläßlich des Neubaues des Anatomie-Gebäudes im Jahre 1870 aufgeschüttet, so daß die Profile seit 68 Jahren in jenem Zustande gelagert waren, in dem sie anläßlich der Probeentnahme freigelegt werden konnten.

Den fünf, insgesamt etwa 60 m auseinanderliegenden Profilen wurden unter Berücksichtigung der erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen tunlichst rasch nach dem Freilegen die zur Untersuchung notwendigen, 35 Nummern umfassenden Bodenproben enthoben und im hiesigen Institut die bakterio-

[1]) Düggeli, M., Die Wechselbeziehungen zwischen den niederen Organismen und der Fruchtbarkeit unserer Boden. Sammlung der Vorträge des ersten Fortbildungskurses der Konferenz schweiz. Kulturingenieure, April 1926, an der Eidgen. Technischen Hochschule in Zurich. Brugg (Buchdruckerei Effingerhof) 1927. 33 S.

logische Prüfung eingeleitet. Neben der Bestimmung des Wassergehaltes, der Reaktion mittels des Jonoskops von Lautenschläger, des Gehaltes an Kalziumkarbonat und des Glühverlustes, wurde der biologischen Prüfung das Hauptaugenmerk zugewandt; sie umfaßte den quantitativen Nachweis folgender 12 Bakteriengruppen: Mittels Gußkulturen von Nährgelatine und von Nähragar nachweisbare Bakterien, in Zuckeragar hoher Schicht-Kultur gedeihende Spaltpilze, Harnstoffzersetzer, Denitrifizierende, anaerobe Eiweißzersetzer, aerobe und anaerobe stickstoffixierende Arten, Nitrifizierende, Pektinvergärer, anaerobe Zellulosezersetzer und Buttersäurebazillen. Bei der bakteriologischen Prüfung der Bodenproben bediente ich mich der von mir oft verwendeten Kombination der Verdünnungsmethode mit der elektiven Kultur, wobei ich mich, wie bei der Durchführung der übrigen Untersuchungen, der Mitarbeit von Herrn Assistent Otto Richard erfreuen durfte, die auch an dieser Stelle bestens verdankt sei. Die angewendete Arbeitsmethode erlaubt sowohl die Arten, wie die annähernden Mengen der bekannten, den Boden bewohnenden Spaltpilze festzustellen; sie ist erstmals in der Schweiz. Zeitschrift für Forstwesen, 1923, und neuerdings mit Ergänzungen in den Mitteilungen der Schweiz. Anstalt für das forstliche Versuchswesen, Bd. 20, 1938, beschrieben[1]).

Die nachstehenden Angaben wollen eine Charakterisierung der für die Untersuchungen herangezogenen 35 Böden ermöglichen, wobei die beigegebenen drei Abbildungen mit den fünf Bodenprofilen die Lagerung im Profil und die Beschaffenheit der einzelnen Proben erläutern sollen.

Kurze Beschreibung der den Profilen 1—5 enthobenen Bodenproben P 1—P 35.

Bodenprofil 1 (siehe Abb. 1, Profil 1).

P 1 (Schicht A) aus 1—10 cm Tiefe, ein humushaltiger, wenig Steine aufweisender Lehm von annähernd neutraler Reaktion und hohem Gehalt an Kalziumkarbonat, von englischem Raygras mit aufrechter Trespe, Wiesensalbei und knolligem Hahnenfuß bewachsen.

P 2 (Schicht A) aus 25 cm Tiefe, schwächer humushaltiger, kalkreicher Lehm von schwach alkalischer Reaktion.

P 3 (Schicht B) aus 40 cm Tiefe, etwas humushaltiger, kalkreicher Sand von schwach alkalischer Reaktion.

P 4 (Schicht C) aus 70 cm Tiefe, ein humus- und kalkhaltiger, ziemlich tonreicher Lehm von neutraler Reaktion.

P 5 (Schicht D) aus 90 cm Tiefe, mit ähnlicher Beschaffenheit wie P 3, aber bei gleichzeitigem Vorkommen nicht unbedeutender Steinmengen; schwach alkalische Reaktion.

P 6 (Schicht E) aus 1 m Tiefe, ein humushaltiger, etwas kalkführender Lehm, von schwach alkalischer Reaktion.

P 7 (Schicht F) aus 170 cm Tiefe, ein schwach humus-, aber stark kalk- und steinhaltiger Lehm von schwach alkalischer Reaktion.

P 8 (Schicht G) aus 230 cm Tiefe, ein humusarmer, ziemlich kalk- und tonführender Boden, alkalisch reagierend.

P 9 (Schicht G') aus 300 cm Tiefe, ein kalk- und sandreicher, humusarmer Lehm, von schwach alkalischer Reaktion.

Bodenprofil 2 (siehe Abb. 1, Profil 2).

P 10 (Schicht A) aus 1—10 cm Tiefe, von bedeutendem Humus- und Kalkgehalt sowie neutraler Reaktion. Der Pflanzenwuchs bestand zur Hauptsache aus englischem Raygras, aufrechter Trespe, knolligem Hahnenfuß und Wucherblumen.

[1]) Düggeli, M., Studien über den Einfluß der im Stadtwald Zofingen angewandten Maßnahmen zur Bodenverbesserung auf die Bakterienflora des Waldbodens. Bodenverbesserungsversuche. II. Mitteilung. S. 307—444.

P 11 (Schicht A) aus 75 cm Tiefe mit bescheidenem Humus- und Kalkgehalt, Reaktion schwach alkalisch.

P 12 (Schicht B) aus 110 cm Tiefe, ein kalkreicher, steinhaltiger, humusfreier, neutral reagierender Boden.

P 13 (Schicht C) aus 130 cm Tiefe, kalkhaltig, humusfuhrend, schwach alkalisch reagierend.

P 14 (Schicht C) aus 150 cm Tiefe, dem P 13 sehr ahnlich.

P 15 (Schicht D) aus 210 cm Tiefe, mit reichlich Steinen und fehlendem Humus-, aber bedeutendem Kalkgehalt. Reaktion schwach alkalisch.

Bodenprofil 3 (siehe Abb. 2, Profil 3).

P 16 (Schicht A) dem mit einem doppelten Steinbelag versehenen Boden aus 50 cm Tiefe entnommen. Der von reichlich kleinen und großeren Steinen durchsetzte sand- und kalkreiche, aber humusfreie Boden reagiert deutlich alkalisch.

P 17 (Schicht B) aus 70 cm Tiefe ist ein brauner, humusfuhrender, stark gekrümelter, mit harten Tonknollen durchsetzter Boden von schwach alkalischer Reaktion.

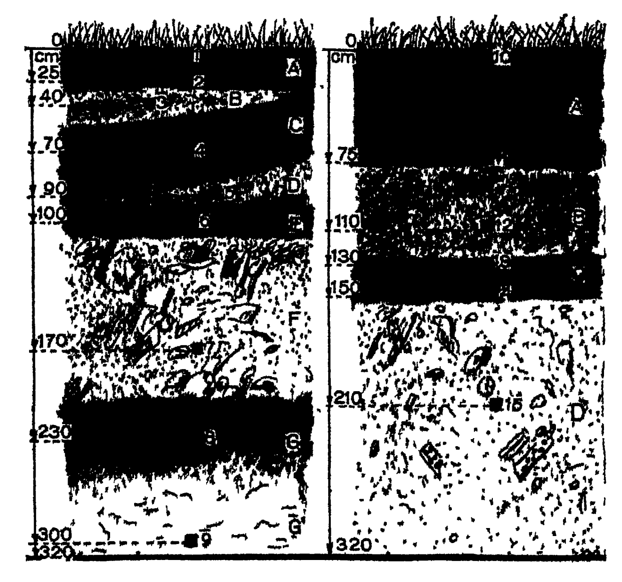
P 18 (Schicht B) aus 110 cm Tiefe, ist kalkreich, aber humusärmer als P 17, von schwach alkalischer Reaktion.

P 19 (Schicht C) aus 135 cm Tiefe, sehr kalkreich, humusfrei, von deutlich alkalischer Reaktion; steinreich.

P 20 (Schicht D) aus 175 cm Tiefe, kalkreich, deutlich humusführend, schwach alkalische Reaktion.

P 21 (Schicht E) aus 225 cm Tiefe, sehr kalk- und steinreich, aber humusfrei, von deutlich alkalischer Reaktion.

P 22 (Schicht F) aus 250 cm Tiefe; der maßig kalkführende Boden verrät durch seine braune Farbe einen nicht unbedeutenden Humusgehalt und reagiert schwach alkalisch.



Profil 1. Profil 2.

Abb. 1.

P 23 (Schicht G) aus 350 cm Tiefe, ein kalkreicher, keinen Humus enthaltender, steinreicher Boden; er reagiert schwach alkalisch.

Bodenprofil 4 (siehe Abb. 2, Profil 4).

P 24 (Schicht A) dem eine Böschung von 50° Neigung zeigenden, oben mit Steinen belegten Boden aus 1 m Tiefe entnommen; ein humus- und kalkhaltiger, schwach alkalisch reagierender Boden.

P 25 (Schicht A) aus 145 cm Tiefe, etwas weniger humus-, dagegen kalkreicher als P 24 bei schwach alkalischer Reaktion.

P 26 (Schicht B) aus 155 cm Tiefe, ein hellgelber, ton- und kalkreicher, aber humusfreier, deutlich alkalisch reagierender Boden.

P 27 (Schicht C) aus 2 m Tiefe, ein nicht humus-, aber ziemlich viel Kalk und Steine führender, sandreicher Boden von alkalischer Reaktion.

P 28 (Schicht D) aus 250 cm Tiefe, relativ wenig Kalk enthaltender, aber mit viel Steinen durchsetzter tonreicher, humushaltiger, schwach alkalisch reagierender Boden.

P 29 (Schicht E) aus 310 cm Tiefe; mit viel Kalk und ziemlich Steinen versetztes, keine Humusstoffe enthaltendes, schwach alkalisch reagierendes Material.

Bodenprofil 5 (siehe Abb. 3, Profil 5).

P 30 (Schicht A). Wie beim Profil 4 ist auch hier der an der Oberfläche mit Steinen belegte Boden mit einer 50° Neigung zeigenden Böschung versehen. Die Probe stammt aus 130 cm Tiefe, verrät durch ihre dunkelbraune Farbe einen bedeutenden Humusgehalt, der von relativ bescheidenen Mengen kohlensauren Kalkes begleitet ist und schwach alkalisch reagiert.

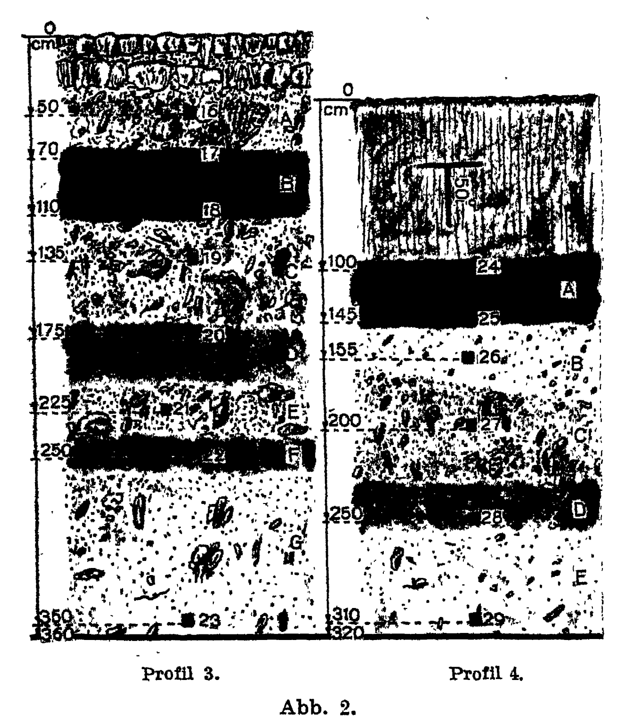
P 31 (Schicht B) aus 165 cm Tiefe. Humusgehalt fehlt; der reichliche Gehalt an Kalziumkarbonat ist begleitet von etwas Steinen und zeigt schwach alkalische Reaktion. Das zur Hauptsache sandige Material enthält Tonknollen.

P 32 (Schicht C) aus 205 cm Tiefe. Der sehr kalkreiche, steinführende, deutlich alkalisch reagierende, tonreiche Boden enthält keinen Humus.

P 33 (Schicht D) aus 230 cm Tiefe ist P 32 ähnlich.

P 34 (Schicht E) aus 270 cm Tiefe verrät durch seine dunklere Farbe einen erhöhten Humusgehalt, zeigt deutlich alkalische Reaktion und hat, verglichen mit P 32, ein reduziertes Vorkommen von Kalziumkarbonat.

P 35 (Schicht F) aus 350 cm Tiefe hat bei sehr hohem Kalk- und bedeutendem Steingehalt keine Humusstoffe und deutlich alkalische Reaktion.



Profil 3. Profil 4.

Abb. 2.

Nach dieser Charakterisierung der Bodenproben seien die Ergebnisse bei der chemischen Untersuchung der Böden P 1—P 9, die dem Profil 1 entnommen wurden, mitgeteilt. Diese Untersuchungen wurden in zuvorkommender Weise von der Eidgen. Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon nach den dort üblichen Methoden ausgeführt, wofür der Direktion und ihren Mitarbeitern auch an dieser Stelle der gebührende Dank ausgesprochen sei.

Die in der Übersicht 1 enthaltenen Untersuchungsbefunde lassen leicht erkennen, welch große Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung zwischen den einzelnen Bodenschichten vorhanden sind, die ihre Rückwirkung auf die darin lebenden Mikroorganismen zeitigen werden.

Die nämlichen Bodenproben P 1—P 9 des Profils 1 prüfte ich auf die Anteile von Bodenskelett und Feinerde am Gesamtboden in trockenem Zustande und erzielte hierbei folgende in Prozenten ausgedrückte Ergebnisse:

	Feinerde %	Skelett %		Feinerde %	Skelett %
P 1 . . .	91,1	8,9	P 6 . . .	92,1	7,9
P 2 . . .	90,7	9,3	P 7 . . .	70,3	29,7
P 3 . . .	78,8	21,2	P 8 . . .	68,1	31,9
P 4 . . .	89,3	10,7	P 9 . . .	70,6	29,4
P 5 . . .	73,3	26,7			

Übersicht 1.

Resultate bei der chemischen Untersuchung der dem Bodenprofil 1 entstammenden Proben P 1—P 9.

Probe	Aus einer Tiefe von	Humusgehalt v. H. des Trockengewichtes	Gehalt an Gesamtstickstoff %	Im Salzsäure-Auszug		
				Gesamtphosphorsäure %	Kali %	Kalk %
P 1	0 cm	3,91	0,30	0,11	0,11	9,70
P 2	25 „	3,53	0,24	0,21	0,14	11,06
P 3	40 „	1,77	0,10	0,13	0,17	13,3
P 4	70 „	3,37	0,18	0,39	0,15	15,27
P 5	90 „	1,67	0,07	0,11	0,10	17,00
P 6	100 „	2,45	0,18	0,14	0,13	3,37
P 7	170 „	1,40	0,05	0,07	0,10	16,15
P 8	230 „	1,91	0,12	0,13	0,13	4,58
P 9	300 „	1,08	0,04	0,04	0,11	18,50

Diese Angaben vermitteln die Überzeugung, daß die einzelnen Bodenschichten nicht nur in ihrer chemischen Beschaffenheit, sondern auch in ihrem physikalischen Verhalten bedeutende Unterschiede zeigen müssen.

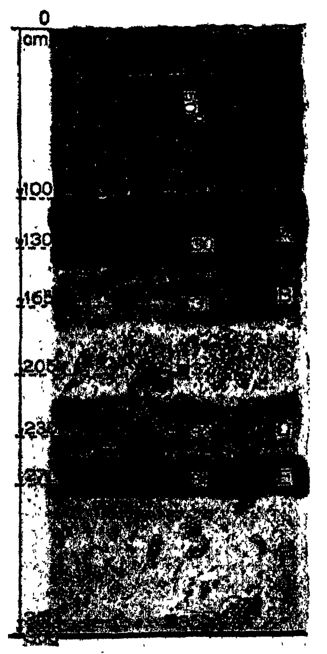
Die übrigen Untersuchungsergebnisse bei den Proben aus den einzelnen Bodenprofilen werden in Tabellenform zusammengezogen nachstehend mitgeteilt.

Bodenprofil 1 (siehe Abb. 1, Profil 1).

Die bei den Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse sind in der Übersicht 2 enthalten (siehe Übersicht 2).

Die Übersicht 2 gibt zu folgenden Bemerkungen Veranlassung:

Bei einem mittleren W a s s e r g e h a l t aller 9 Bodenproben des Profils 1 von 13,9% des Feuchtgewichtes betrug er bei den fünf humushaltigen Böden 16,5, bei den vier humusarmen nur 10,7%, so daß der Humusgehalt eine erhöhende Wirkung auf den Wassergehalt auszuüben vermochte.



Profil 5.

Abb. 3.

Die R e a k t i o n des Bodens, in p_H-Werten ausgedrückt, betrug im Mittel 7,49, war also

Übersicht 2.

Ergebnisse bei der Untersuchung der Bodenproben des Profils 1.

Die Mengen der nachgewiesenen Bakterien sind auf das Gramm feuchten Bodens berechnet.

Bezeichnung der Proben	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 9
Stammt aus einer Tiefe von	0 cm	25 cm	40 cm	70 cm	90 cm	100 cm	170 cm	270 cm	300 cm
Wassergehalt in Prozenten des Feuchtgewichtes	19,3	17,6	10,6	16,1	13,6	15,9	6,8	13,7	11,7
Reaktion als p_H-Wert angegeben	6,85	7,34	7,61	7,36	7,53	7,56	7,75	7,58	7,85
Glühverlust in Prozenten des Trockengewichtes	8,5	6,9	1,4	6,8	2,4	6,3	2,0	5,3	2,4
Gehalt an Kalziumkarbonat	21,8	22,2	27,6	15,0	35,4	5,0	41,4	10,4	40,4
Gelatinewüchsige Bakterien in Millionen .	9,6	7,8	2,3	7,9	1,78	6,1	0,48	1,87	0,278
Davon Gelatineverflüssigende in Millionen	1,0	0,9	0,24	1,1	0,09	0,4	0,04	0,08	0,021
Agarwüchsige Spaltpilze in Millionen . .	8,3	6,2	0,71	6,93	0,89	4,8	0,27	1,62	0,24
In Zuckeragar hoher Schichtkultur gedeihende Bakterien in Millionen	0,6	0,8	0,36	0,58	0,19	0,26	0,018	0,053	0,033
Harnstoffzersetzende Spaltpilze in Tausenden	1 000	100	10	100	1	10	1	1	0,1
Denitrifizierende Bakterien in Hunderten	10	10	1	10	1	10	0,1	1	0,1
Pektinvergärer in Tausenden	100	1 000	10	100	10	10	10	10	1
Anaerobe Zellulosezersetzer	100	100	10	100	10	10	1	1	—
Anaerobe Buttersäurebazillen in Tausenden	10	100	1	10	10	10	1	10	0,1
Anaerobe Eiweißzersetzer	100	100	10	100	10	10	10	10	10
Nitrifizierende Bakterien	100	100	10	10	1	1	—	—	—
Stickstoffixierende vom Typus des Bacillus amylobacter Bred.	10 000	1 000	100	1 000	100	1 000	100	1 000	100
Stickstoffixierende vom Typus des Azotobacter chroococcum Beij.	3 500	2 600	150	250	60	70	—	—	—

schwach alkalisch; bei den humushaltigen machte sie p_H 7,34, bei den humusarmen p_H 7,69 aus; der mittlere p_H-Wert war bei den humusarmen Böden etwas höher als bei den humushaltigen.

Der für die Orientierung über den Humusgehalt des Bodens beachtenswerte Glühverlust belief sich im Mittel aller 9 Bodenproben auf 4,7% des Trockengewichtes, bei den humushaltigen aber auf 6,8%, bei den humusarmen nur auf 2,1%.

Bedeutende Differenzen wies der Gehalt der verschiedenen Bodenschichten an Kalziumkarbonat auf; während er im Durchschnitt aller Proben 24,4% ausmachte, sank er bei den humushaltigen auf 14,9% und stieg bei den humusarmen Böden auf 36,2%.

Von den mittels Gußkulturen von Nährgelatine im Gramm feuchten Bodens nachweisbaren Bakterien ließen alle Böden im Durchschnitt 4 234 002 feststellen, während aus den humushaltigen Proben 6 654 000, der humusarmen nur 1 209 500 Keime dieser Gruppe kultiviert werden konnten.

Die gelatineverflüssigenden Spaltpilze berücksichtigend, betrug ihr Gehalt im Durchschnitt der 9 Proben 430 000, bei den humushaltigen Böden aber 696 000, bei den humusarmen nur 98 000 Keime.

Die auf den Gußkulturen von Nähragar zu Kolonien angehenden Bakterien waren im Durchschnitt aller Proben mit 3 329 000 vertreten, wobei die humushaltigen Böden 5 570 000, die humusarmen nur 527 500 konstatieren ließen.

Die bei Luftabschluß in Zuckeragar hoher Schicht-Kultur gedeihenden Bakterien wurden im Durchschnitt aller 9 Proben zu 321 600 im Gramm feuchten Bodens festgestellt, während sich ihre Zahl bei den humushaltigen Böden auf 458 600, bei den humusarmen nur auf 150 200 belief.

Die mit der Elektivkultur nachgewiesenen Harnstoffzersetzer waren im Mittel sämtlicher Böden in der Menge von 135 900, bei den humushaltigen dagegen mit 242 200 und bei den humusarmen nur mit 3025 Vertretern nachweisbar.

Die Denitrifizierenden verzeichneten im Durchschnitt aller 9 Böden 480, bei den humushaltigen Proben aber 820, bei den humusarmen nur 55 Zellen.

Die Gruppe der Pektinvergärer ließ im Mittel aller Proben 139 000, bei den humusführenden Böden 244 000, bei den humusarmen 7750 Vertreter nachweisen.

Relativ bescheiden war die Zahl der anaeroben Zellulosezersetzer, die im Gesamtdurchschnitt 37, bei den humushaltigen Böden 62, bei den humusarmen nur 4 betrug.

Die in anaerober Milch zum Nachweis gelangenden Buttersäurebazillen waren im Gesamtmittel durch 16 900, bei den humusführenden Böden durch 28 000, bei den humusarmen dagegen nur durch 3025 Zellen vertreten.

Die bei Luftabschluß gedeihenden Eiweißzersetzer zeigten nur eine spärliche Vertretung, die im Gesamtdurchschnitt 40, bei den humushaltigen Böden 64, bei den humusarmen nur 10 Zellen im Gramm feuchten Materials umfaßte.

Bescheiden war auch die Menge der nachweisbaren Nitrifizierenden. Der Durchschnitt aller Proben betrug 25; bei den humushaltigen Böden belief er sich auf 42, bei den humusarmen dagegen nur auf 3 Zellen.

Die anaeroben Stickstoffixierenden vom Typus des Bacillus amylobacter Bred. fanden sich im Mittel aller Bodenproben in der Menge von 1600 im Gramm feuchten Bodens, während der Gehalt im humushaltigen Material auf 2800 anstieg und im humusarmen auf 100 sank.

Die Gruppe der aeroben Stickstoffixierenden vom Typus des Azotobacter chroococcum Beij. wies im Durchschnitt aller Proben 737, bei den humushaltigen Böden 1284, bei den humusarmen dagegen nur 52 Vertreter auf.

Bodenprofil 2 (siehe Abb. 1, Profil 2).

Die bei den Untersuchungen erzielten Resultate sind in der Übersicht 3 zusammengestellt (siehe Übersicht 3).

Übersicht 3.
Ergebnisse bei der Untersuchung der Bodenproben des Profils 2.
Die Mengen der nachgewiesenen Bakterien sind auf das Gramm feuchten Bodens berechnet.

Bezeichnung der Proben	P 10	P 11	P 12	P 13	P 14	P 15
Stammt aus einer Tiefe von	0 cm	70 cm	110 cm	130 cm	150 cm	205 cm
Wassergehalt in Prozenten des Feuchtgewichtes . .	27,4	17,5	8,5	17,5	11,5	8,4
Reaktion als p_H-Wert angegeben	7,32	7,45	7,87	7,52	7,66	7,87
Glühverlust in Prozenten des Trockengewichts . .	16,0	7,1	3,7	7,8	6,2	3,8
Gehalt an Kalziumkarbonat	18,2	6,8	37,2	6,0	8,2	29,6
Gelatinewüchsige Bakterien in Millionen	8,8	5,0	1,49	6,8	2,8	1,58
Davon Gelatineverflüssigende in Millionen	0,9	0,8	0,06	0,5	0,14	0,15
Agarwüchsige Spaltpilze in Millionen	7,6	2,1	1,06	1,96	2,5	0,54
In Zuckeragar hoh. Schichtkultur gedeihende Bakterien in Millionen . . .	1,1	1,4	0,09	0,55	0,51	0,079
Harnstoffzersetzende Spaltpilze in Tausenden . .	1000	100	1	10	10	1
Denitrifizierende Bakterien in Tausenden	1	1	0,01	0,1	0,1	0,01
Pektinvergärer in Tausenden	1000	1000	0,1	100	10	1
Anaerobe Zellulosezersetzer	100	100	—	1	1	—
Anaerobe Buttersäurebazillen in Tausenden . . .	10	10	1	10	10	1
Anaerobe Eiweißzersetzer	100	100	10	10	10	10
Nitrifizierende Bakterien .	100	10	—	1	—	—
Stickstoffixierende v. Typus d. Bac. amylobacter Bred.	1000	1000	10	100	10	1
Stickstoffixierende v. Typus d. Azotobact. chrooc. Beij.	4200	1800	30	120	—	—

Der Übersicht 3 seien folgende Angaben beigefügt:

Bei einem mittleren Wassergehalt aller 6 Bodenproben des Pro-

fils 2 von 15,1% des Feuchtgewichtes, betrug er bei den 4 humushaltigen Böden 18,5, bei den 2 humusfreien nur 11,5%.

Die Reaktion des Bodens, in p_H-Werten ausgedrückt, betrug im Mittel 7,62, war also schwach alkalisch; bei den humushaltigen machte sie p_H 7,49, bei den humusfreien p_H 7,87 aus.

Der Glühverlust, der unter Berücksichtigung des Gehaltes an Kalziumkarbonat und an abschlämmbaren Bodenbestandteilen eine Einschätzung des Humusgehaltes des Bodens ermöglicht, betrug im Mittel aller 6 Bodenproben 7,4% des Trockengewichts, bei den humushaltigen aber 9,3%, bei den humusfreien nur 3,8%.

Große Differenzen wiesen die verschiedenen Bodenschichten in ihrem Gehalt an Kalziumkarbonat auf; während er im Durchschnitt der 6 Proben 17,3% ausmachte, sank er bei den humushaltigen auf 9,8% und stieg bei den humusfreien Böden auf 33,4% an.

Von den mittels Gußkulturen von Nährgelatine im Gramm feuchten Bodens nachweisbaren Bakterien ließen alle Böden im Durchschnitt 4 412 000 feststellen, während aus den humushaltigen Proben 5 850 000, den humusfreien nur 1 535 000 kultiviert werden konnten.

Wenn die gelatineverflüssigenden Spaltpilze berücksichtigt werden, so betrug ihre Zahl im Durchschnitt der 6 Proben 425 000, bei den humushaltigen Böden 585 000, bei den humusfreien nur 105 000 Keime.

Die auf den Gußkulturen von Nähragar zu Kolonien angehenden Bakterien waren im Durchschnitt aller Proben mit 2 627 000 vertreten; die humushaltigen Böden ließen 3 540 000, die humusfreien nur 800 000 konstatieren.

Die bei Luftabschluß in Zuckeragar hoher Schichtkultur gedeihenden Bakterien wurden im Durchschnitt aller 6 Proben zu 621 500 im Gramm feuchten Bodens festgestellt, während sich ihre Zahl bei den humushaltigen Böden auf 890 000, bei den humusfreien nur auf 84 500 belief.

Die mit der Elektivkultur nachgewiesenen Harnstoffzersetzer waren im Mittel sämtlicher Böden in der Menge von 187 000, bei den humushaltigen dagegen mit 280 000, bei den humusfreien nur mit 1000 Vertretern nachweisbar.

Die Denitrifizierenden verzeichneten im Durchschnitt aller 6 Böden 370, bei den humushaltigen Proben aber 550, bei den humusfreien nur 10 Zellen.

Die Gruppe der Pektinvergärer ließ im Mittel aller Proben 351 900, bei den humushaltigen Böden 522 000, bei den humusfreien bloß 550 Vertreter nachweisen.

Relativ bescheiden war die Zahl der anaeroben Zellulosezersetzer, die im Gesamtdurchschnitt 34, bei den humushaltigen Böden 50, bei den humusfreien im Gramm feuchten Materials dagegen nicht festgestellt werden konnten.

Die in anaerober Milch zum Nachweis gelangenden Buttersäurebazillen waren im Gesamtmittel durch 7000, bei den humushaltigen Böden durch 10 000, bei den humusfreien durch 1000 Zellen vertreten.

Die bei Luftabschluß gedeihenden Eiweißzersetzer zeigten nur eine spärliche Vertretung, die im Gesamtdurchschnitt 40, bei den humushaltigen Böden 55, bei den humusfreien nur 10 Zellen umfaßte.

Bescheiden war die Menge der nachweisbaren Nitrifizierenden. Der Durchschnitt aller Proben betrug 18; bei den humushaltigen Böden

belief er sich auf 28, während bei den humusfreien keine Vertreter feststellbar waren.

Die sauerstoffscheuen Stickstoffbindenden vom Typus des Bacillus amylobacter Bred. fanden sich im Mittel aller Bodenproben in der Menge von 353 im Gramm feuchten Bodens vor, während der Gehalt im humushaltigen Material auf 528 anstieg und im humusfreien auf 6 sank.

Die Gruppe der sauerstoffliebenden Stickstoffixierenden vom Typus des Azotobacter chroococcum Beij. wies im Durchschnitt aller Proben 1025, bei den humushaltigen 1530, bei den humusfreien dagegen nur 15 Vertreter auf.

Bodenprofil 3 (siehe Abb. 2, Profil 3).

Die bei den durchgeführten Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse sind in der Übersicht 4 enthalten (siehe Übersicht 4).

Die in der Übersicht 4 enthaltenen Resultate geben zu folgenden Bemerkungen Veranlassung:

Bei einem mittleren Wassergehalt aller 8 Bodenproben des Profils 3 von 14,3% des Feuchtgewichtes betrug er bei den 4 humushaltigen Böden 16,6, bei den 4 humusfreien nur 11,9%.

Die in p_H-Werten ausgedrückte Reaktion des Bodens betrug im Mittel 7,83, war also deutlich alkalisch; bei den humushaltigen machte sie p_H 7,68, bei den humusfreien p_H 7,98 aus.

Der für die Orientierung über den Humusgehalt des Bodens beachtenswerte Glühverlust betrug im Mittel aller 8 Bodenproben 5,1% des Trockengewichtes, bei den humushaltigen 6,8%, bei den humusfreien nur 3,3%.

Groß sind die Unterschiede im Gehalt der Bodenproben an Kalziumkarbonat; während er im Durchschnitt aller Böden 28,9% des Trockengewichtes ausmachte, sank er bei den humushaltigen auf 14,0% und stieg bei den humusfreien auf 43,9%.

Von den mittels Gußkulturen von Nährgelatine im Gramm feuchten Bodens nachweisbaren Bakterien ließen alle 8 Böden im Durchschnitt 1 784 000 feststellen, während aus den humushaltigen Proben 3 225 000, den humusfreien nur 344 000 Keime kultiviert werden konnten.

Die gelatineverflüssigenden Spaltpilze berücksichtigend, betrug ihre Zahl im Durchschnitt der 8 Proben 102 600, bei den humushaltigen Böden 180 000, bei den humusfreien nur 25 200 Keime.

Die auf den Gußkulturen von Nähragar zu Kolonien angehenden Bakterien waren im Durchschnitt aller Proben mit 800 600 vertreten, während die humushaltigen Böden 1 515 000, die humusfreien nur 527 500 konstatieren ließen.

Jene Bakterien, die in Zuckeragar hoher Schichtkultur bei Luftabschluß gedeihen, wurden im Durchschnitt aller 8 Proben zu 41 100 im Gramm feuchten Bodens festgestellt, während sich ihre Zahl bei den humushaltigen Böden auf 72 200, bei den humusfreien nur auf 10 000 belief.

Die mit der Elektivkultur nachgewiesenen Harnstoffzersetzer waren im Mittel sämtlicher Böden in der Menge von 15 500, bei den humushaltigen dagegen mit 30 200 und bei den humusfreien nur mit 800 Vertretern nachweisbar.

Die Denitrifizierenden verzeichneten im Durchschnitt aller 8 Böden 550, bei den humushaltigen Proben aber 1000, bei den humusfreien nur 100 Zellen.

Übersicht 4.

Ergebnisse bei der Untersuchung der Bodenproben des Profils 3.

Die Mengen der nachgewiesenen Bakterien sind auf das Gramm feuchten Bodens berechnet.

Bezeichnung der Proben	P 16	P 17	P 18	P 19	P 20	P 21	P 22	P 23
Stammt aus einer Tiefe von	50 cm	70 cm	110 cm	135 cm	175 cm	225 cm	250 cm	350 cm
Wassergehalt in Prozenten des Feuchtgewichtes	11,4	20,4	15,8	11,5	15,0	10,2	15,3	14,6
Reaktion als p_H-Wert angegeben	8,12	7,53	7,62	7,92	7,71	8,02	7,84	7,88
Glühverlust in Prozenten des Trockengewichtes	2,1	9,1	6,7	4,1	6,4	4,0	4,9	3,2
Gehalt an Kalziumkarbonat	46,0	7,2	20,0	54,6	21,0	36,8	7,8	38,2
Gelatinewüchsige Bakterien in Millionen	0,102	5,8	5,4	0,88	1,11	0,29	0,59	0,104
Davon Gelatineverflüssigende in Millionen	0,009	0,3	0,3	0,05	0,07	0,04	0,05	0,002
Agarwüchsige Spaltpilze in Millionen	0,061	2,9	2,7	0,14	0,19	0,077	0,27	0,067
In Zuckeragar hoher Schichtkultur gedeihende Bakterien in Millionen	0,008	0,022	0,027	0,015	0,14	0,012	0,10	0,005
Harnstoffzersetzende Spaltpilze in Tausenden	1	100	10	1	10	1	1	0,1
Denitrifizierende Bakterien in Tausenden	0,1	1	1	0,1	1	0,1	1	0,1
Pektinvergärer in Tausenden	1	100	100	1	10	1	1	0,01
Anaerobe Zellulosezersetzer	—	100	10	1	1	—	1	—
Anaerobe Buttersäurebazillen in Tausenden	0,1	100	100	0,1	1	0,1	1	0,1
Anaerobe Eiweißzersetzer	10	100	1 000	10	100	10	100	—
Nitrifizierende Bakterien	—	1	—	—	—	—	—	—
Stickstoffixierende vom Typus des Bacillus amylobacter Bred.	100	1 000	1 000	100	1 000	100	100	10
Stickstoffixierende vom Typus des Azotobacter chroococcum Beij.	—	560	40	—	1	—	—	—

Die Gruppe der Pektinvergärer ließ im Mittel aller Proben 26 800, bei den humushaltigen Böden 52 700, bei den humusfreien 750 Vertreter nachweisen.

Bescheiden war die Zahl der luftscheuen Zellulosezersetzer, die im Gesamtdurchschnitt 14 und bei den humushaltigen Böden 28 betrug, während nur in einer von den 4 humusfreien Proben im Gramm ein Vertreter festgestellt werden konnte.

Die in anaerober Milch zum Nachweis gelangenden Buttersäurebazillen waren im Gesamtmittel durch 25 300, bei den humushaltigen Böden durch 50 500, bei den humusfreien dagegen nur durch 100 Zellen vertreten.

Die bei Sauerstoffabschluß gedeihenden Eiweißzersetzer zeigten ziemlich spärliche Vertretung, die im Gesamtdurchschnitt 166, bei den humushaltigen Böden 325, bei den humusfreien nur 7 Zellen umfaßte.

Mit Ausnahme eines humushaltigen Bodens, der im Gramm Nitrifizierende feststellen ließ, gelang der Nachweis dieser Spaltpilze bei den übrigen Bodenproben nicht.

Die luftscheuen Stickstoffixierenden vom Typus des Bac. amylobacter Bred. fanden sich im Mittel aller 8 Bodenproben in der Menge von 426 im Gramm feuchten Bodens vor, während der Gehalt im humushaltigen Material auf 778 anstieg und im humusfreien auf 78 sank.

Die Gruppe der aeroben Stickstoffixierenden vom Typus des Azotobacter chroococcum Beij. wies im Durchschnitt aller Proben 75 und bei den humushaltigen 150 Vertreter auf, während die humusfreien Materialien diese Spaltpilzspezies nicht nachweisen ließen.

Bodenprofil 4 (siehe Abb. 2, Profil 4).

Die bei den durchgeführten Prüfungen erhaltenen Befunde sind in der Übersicht 5 zusammengestellt (siehe Übersicht 5).

Der Übersicht 5 lasse ich nachstehende Angaben folgen:

Bei einem mittleren Wassergehalt aller 6 Bodenproben des Profils 4 von 13,5% des Feuchtgewichtes betrug er bei den 3 humushaltigen Böden 15,4, bei den 3 humusfreien nur 11,6%.

Die Reaktion des Bodens, in p_H-Werten ausgedrückt, belief sich im Mittel auf 7,88, war also deutlich alkalisch; bei den humushaltigen machte sie p_H 7,74, bei den humusfreien p_H 8,03 aus.

Der Glühverlust betrug im Mittel aller 6 Bodenproben 4,4% des Trockengewichtes, bei den humushaltigen 5,6, bei den humusfreien 3,2%.

Sehr groß sind die Differenzen im Gehalt an Kalziumkarbonat bei den verschiedenen Bodenschichten; während er im Durchschnitt aller Proben 29,3% des Trockengewichtes ausmachte, sank er bei den humushaltigen auf 17,3% und stieg bei den humusfreien auf 41,3%.

Von den mittels Gußkulturen von Nährgelatine im Gramm feuchten Bodens nachweisbaren Bakterien ließen alle Böden im Durchschnitt 2 819 700 feststellen, während aus den humushaltigen Proben 5 467 000, den humusfreien nur 172 700 Keime kultiviert werden konnten.

Bei Berücksichtigung der gelatineverflüssigenden Spaltpilze betrug ihre Zahl im Durchschnitt der 6 Proben 264 300, bei den humushaltigen Böden aber 500 000, bei den humusfreien nur 28 700.

Die auf den Gußkulturen von Nähragar zu Kolonien angehenden Bakterien waren im Durchschnitt aller Proben mit 1 427 200 vertreten, wäh-

Übersicht 5.

Ergebnisse bei der Untersuchung der Bodenproben des Profils 4.

Die Mengen der nachgewiesenen Bakterien sind auf das Gramm feuchten Bodens berechnet.

Bezeichnung der Proben	P 24	P 25	P 26	P 27	P 28	P 29
Stammt aus einer Tiefe von	100 cm	145 cm	155 cm	200 cm	250 cm	310 cm
Wassergehalt in Prozenten des Feuchtgewichtes	15,9	15,3	9,6	12,6	14,9	12,6
Reaktion als p_H-Wert angegeben . . .	7,66	7,88	8,11	8,10	7,67	7,89
Glühverlust in Prozenten des Trockengewichtes	6,6	5,1	2,8	3,7	5,2	3,1
Gehalt an Kalziumkarbonat	17,6	26,4	47,2	33,2	7,8	43,6
Gelatinewüchsige Bakterien in Millionen	7,9	5,1	0,14	0,27	3,4	0,108
Davon Gelatineverflüssigende in Mill.	0,9	0,2	0,03	0,03	0,4	0,026
Agarwüchsige Spaltpilze in Millionen .	3,4	2,9	0,022	0,038	2,1	0,103
In Zuckeragar hoher Schichtkultur gedeihende Bakterien in Millionen . .	0,14	0,22	0,014	0,011	0,16	0,006
Harnstoffzersetzende Spaltpilze in Tausenden	100	100	0,1	0,1	1	0,1
Denitrifizierende Bakterien	100	100	10	10	100	10
Pektinvergärer in Tausenden	10	10	1	1	10	1
Anaerobe Zellulosezersetzer	10	10	1	1	1	—
Anaerobe Buttersäurebazillen	10 000	10 000	100	100	1000	1
Anaerobe Eiweißzersetzer	1 000	1 000	100	100	1000	1
Nitrifizierende Bakterien	10	10	—	—	—	—
Stickstoffixierende vom Typus des Bac. amylobacter Bred.	10 000	10 000	100	10	1000	10
Stickstoffixierende vom Typus d. Azotobacter chroococcum Beij.	20	30	—	—	—	—

rend die humushaltigen Böden 2 800 000, die humusfreien nur 54 300 konstatieren ließen.

Die bei Luftabschluß in Zuckeragar hoher Schichtkultur gedeihenden Bakterien wurden im Durchschnitt aller 6 Proben zu 91 800 im Gramm feuchten Bodens festgestellt, während sich ihre Zahl bei den humushaltigen Böden auf 173 300, bei den humusfreien nur auf 10 300 belief.

Die mit der Elektivkultur nachgewiesenen Harnstoffzersetzer waren im Mittel sämtlicher Böden in der Menge von 33 500, bei den humushaltigen dagegen mit 67 000 und bei den humusfreien nur mit 100 Vertretern nachweisbar.

Die Denitrifizierenden verzeichneten im Durchschnitt der 6 Böden 55, bei den humushaltigen Proben aber 100, bei den humusfreien nur 10 Zellen.

Die Gruppe der Pektinvergärer ließ im Mittel 5500, bei den humushaltigen Böden 10 000, bei den humusfreien 1000 Vertreter nachweisen.

Die Menge der anaeroben Zellulosezersetzer, die im Gesamtdurchschnitt 4, bei den humushaltigen Böden 7 und bei den humusfreien nur 1 betrug, hielt sich innerhalb sehr bescheidener Grenzen.

Die mittels anaerob verschlossener Milch zum Nachweis gelangenden Buttersäurebazillen waren im Gesamtmittel durch 3500, bei den humushaltigen Böden durch 7000, bei den humusfreien dagegen nur durch 67 Zellen vertreten.

Die bei Luftabschluß gedeihenden Eiweißzersetzer zeigten eine

relativ starke Vertretung, die im Gesamtdurchschnitt 534, bei den humushaltigen Böden 1000, bei den humusfreien nur 67 Zellen umfaßte.

Die Zahl der nachweisbaren Nitrifizierenden gestaltete sich bescheiden, indem der Durchschnitt aller Proben nur 3 und bei den humushaltigen Böden 7 betrug, während die humusfreien Böden keine salpeterbildenden Spaltpilze feststellen ließen.

Die luftscheuen Stickstoffsammler vom Typus des Bac. amylobacter Bred. fanden sich im Mittel aller Bodenproben in der Menge von 3520 im Gramm feuchten Bodens, während der Gehalt im humushaltigen Material auf 7000 anstieg und im humusfreien auf 40 zurückging.

Die Gruppe der sauerstoffbedürftigen Stickstoffixierenden vom Typus des Azotobacter chroococcum Beij. wies im Durchschnitt aller Proben 8 und bei den humushaltigen 17 Vertreter auf, während in den humusfreien Schichten keine Zellen dieser Bakterienart nachgewiesen werden konnten.

Bodenprofil 5 (siehe Abb. 3, Profil 5).

Die bei der Untersuchung des 6 Bodenproben umfassenden Profiles 5, von denen 2 humushaltig und 4 humusfrei waren, erhaltenen Ergebnisse sind in der Übersicht 6 zusammengefaßt (siehe Übersicht 6).

Übersicht 6.

Ergebnisse bei der Untersuchung der Bodenproben des Profils 5.

Die Mengen der nachgewiesenen Bakterien sind auf das Gramm feuchten Bodens berechnet.

Bezeichnung der Proben	P 30	P 31	P 32	P 33	P 34	P 35
Stammt aus einer Tiefe von	130 cm	165 cm	205 cm	230 cm	270 cm	350 cm
Wassergehalt in Prozenten des Feuchtgewichtes	18,0	10,6	12,6	10,8	15,2	11,9
Reaktion als p_H-Wert angegeben . . .	7,89	7,56	8,15	7,99	8,12	8,10
Glühverlust in Prozenten des Trockengewichtes	7,5	2,8	2,4	2,5	5,4	2,6
Gehalt an Kalziumkarbonat	7,2	22,2	56,0	47,2	19,0	51,0
Gelatinewüchsige Bakterien in Millionen	6,6	0,62	0,108	0,051	1,02	0,079
Davon Gelatineverflüssigende in Mill.	1,2	0,06	0,004	0,007	0,04	0,005
Agarwüchsige Spaltpilze in Millionen .	3,2	0,26	0,09	0,017	0,4	0,062
In Zuckeragar hoher Schicht gedeihende Bakterien in Millionen	0,18	0,016	0,003	0,007	0,12	0,007
Harnstoffzersetzende Spaltpilze	10 000	1000	100	100	1 000	10
Denitrifizierende Bakterien	100	10	10	10	100	10
Pektinvergärer	10 000	1 000	100	100	1 000	100
Anaerobe Zellulosezersetzer	10	1	—	1	1	—
Anaerobe Buttersäurebazillen	10 000	1 000	100	100	10 000	10
Anaerobe Eiweißzersetzer	1 000	100	100	10	1 000	10
Nitrifizierende Bakterien	10	—	—	—	—	—
Stickstoffixierende vom Typus des Bac. amylobacter Bred.	1 000	100	10	10	100	10
Stickstoffixierende vom Typus d. Azotobacter chroococcum Beij.	50	20	—	—	—	—

Die Übersicht 6 gibt zu folgenden Bemerkungen Veranlassung:

Bei einem mittleren Wassergehalt der 6 Bodenproben des Profils 5 von 13,2% des Feuchtgewichtes betrug er bei den 2 humushaltigen Böden 16,6, bei den 4 humusfreien nur 11,5%.

Die Reaktion des Bodens, in p_H-Werten ausgedrückt, betrug im Mittel 7,97, war also deutlich alkalisch; bei den humushaltigen machte sie p_H 8,00, bei den humusfreien p_H 7,95 aus; die Differenzen waren also äußerst bescheiden.

Der für das Einschätzen des Humusgehaltes eines Bodens zu berücksichtigende Glühverlust belief sich im Mittel aller 6 Bodenproben auf 3,9% des Trockengewichtes, bei den humushaltigen aber auf 6,5%, bei den humusfreien nur auf 2,6%.

Sehr bedeutende Differenzen wies der Gehalt der verschiedenen Bodenschichten an Kalziumkarbonat auf; während er im Durchschnitt aller Proben 33,8% ausmachte, sank er bei den humushaltigen auf 13,1% und stieg bei den humusfreien Böden auf 44,1%.

Von den mittels Gußkulturen von Nährgelatine im Gramm feuchten Bodens nachweisbaren Bakterien ließen alle Böden im Durchschnitt 1 413 000 feststellen, während aus den humushaltigen Proben 3 810 000, den humusfreien nur 214 500 Keime dieser Gruppe kultiviert werden konnten.

Die gelatineverflüssigenden Spaltpilze berücksichtigend, betrug ihre Zahl im Durchschnitt der 6 Proben 219 300, bei den humushaltigen Böden aber 620 000, bei den humusfreien nur 19 000.

Die auf den Gußkulturen von Nähragar zu Kolonien angehenden Bakterien waren im Durchschnitt aller Proben mit 671 500 vertreten, wobei die humushaltigen 1 800 000, die humusfreien nur 107 200 konstatieren ließen.

Die bei Luftabschluß in Zuckeragar hoher Schichtkultur gedeihenden Bakterien wurden im Durchschnitt aller 6 Proben zu 55 500 im Gramm feuchten Bodens festgestellt, während sich ihre Zahl bei den humushaltigen Schichten auf 150 000, bei den humusfreien nur auf 8250 belief.

Die mit der Elektivkultur nachweisbaren Harnstoffzersetzer waren im Mittel sämtlicher Böden in der Menge von 2035, bei den humushaltigen dagegen mit 5500 und bei den humusfreien nur mit 302 Vertretern nachweisbar.

Die Denitrifizierenden verzeichneten im Durchschnitt aller 6 Böden 40, bei den humushaltigen Böden 100, bei den humusfreien nur 10 Zellen.

Die Gruppe der Pektinvergärer ließ im Mittel aller Proben 2050, bei den humusführenden Böden 5500, bei den humusfreien 325 Vertreter nachweisen.

Relativ recht bescheiden war die Zahl der anaeroben Zellulosezersetzer, die im Gesamtdurchschnitt bloß 2, bei den humushaltigen Böden 6, bei den humusfreien bloß 1 Zelle im Gramm feuchten Materials betrug.

Die in anaerob verschlossener Milch zum Nachweis gelangenden Buttersäurebazillen waren im Gesamtmittel durch 3535, bei den humusführenden Böden durch 10 000, bei den humusfreien dagegen nur durch 302 Zellen vertreten.

Die bei Luftabschluß gedeihenden Eiweißzersetzer vom Typus des Bacillus putrificus Bienstock zeigten nur eine mäßige Vertretung, die im Gesamtdurchschnitt 370, bei den humushaltigen Böden 1000, bei den humusfreien 55 Zellen umfaßte.

Sehr bescheiden war auch die Menge der nachweisbaren Nitrifizierenden. Der Durchschnitt aller Proben betrug nur 1 Zelle; bei den humushaltigen

Böden belief er sich auf 5, während in den humusfreien keine Vertreter nachgewiesen werden konnten.

Die anaeroben Stickstoffixierenden vom Typus des Bacillus amylobacter Bred. fanden sich im Mittel aller Bodenproben in der Menge von 205 im Gramm feuchten Bodens, während der Gehalt im humushaltigen Material auf 550 anstieg und im humusfreien auf 32 sank.

Die Gruppe der aeroben Stickstoffixierenden vom Typus des Azotobacter chroococcum Beij. wies im Durchschnitt aller Proben 12, bei den humushaltigen 25, bei den humusfreien dagegen nur 5 Vertreter auf.

Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse.

Die im allgemeinen zu beobachtende Regel, daß mit zunehmender Bodentiefe die nachweisbare Mikroflora zurückgeht, wird neben anderen Umständen durch das Vorkommen eingelagerter Schichten humushaltigen Bodens auch dann durchbrochen, wenn diese Einlagerung schon vor Jahrzehnten (68 Jahren) stattgefunden hat. Die in diesen humusführenden Bodenschichten immer noch feststellbaren Verhältnisse begünstigen die Bakterienflora derart, daß sie sowohl hinsichtlich der Menge der Arten wie der Individuen die dazwischen und die darunter gelagerten humusarmen oder -freien Schichten weit überflügeln. Die in Form von nachstehend je gesondert angegebenen Durchschnittswerten faßbaren Unterschiede in der Beschaffenheit der humusführenden und der humusarmen bzw. humusfreien Bodenproben betrugen:

1. Beim Wassergehalt 16,6 und 10,8% des Feuchtgewichtes. 2. Bei der Reaktion, als p_H-Wert angegeben, 7,65 und 7,90. 3. Beim Glühverlust 7,0 und 3,0% des Trockengewichtes. 4. Beim Gehalt an Kalziumkarbonat 13,8 und 39,8% des Trockengewichtes. 5. Bei den mittels Gußkulturen von Nährgelatine nachweisbaren Bakterien 5 001 200 und 695 100 im Gramm feuchten Materials. 6. Bei den die Gelatine verflüssigenden Spaltpilzen 516 200 und 55 200. 7. Bei den auf Gußkulturen von Nähragar Kolonien bildenden Bakterien 3 045 000 und 403 300. 8. Bei den in Zuckeragar hoher Schichtkultur gedeihenden Spaltpilzen 348 800 und 52 600. 9. Bei den Harnstoffzersetzern 125 000 und 1040. 10. Bei den Denitrifizierenden 510 und 37. 11. Bei den Pektinvergärern 167 000 und 2075. 12. Bei den luftscheuen Zellulosezersetzern 31 und 1. 13. Bei den anaeroben Buttersäurebazillen 21 100 und 900. 14. Bei den luftscheuen Eiweißzersetzern 490 und 30. 15. Bei den Nitrifizierenden 16 und 1. 16. Bei der aeroben stickstoffixierenden Gruppe des Azotobacter chroococcum Beij. 600 und 14. 17. Bei der sauerstoffscheuen stickstoffixierenden Gruppe des Bacillus amylobacter Bred. 2330 und 50.

Aus diesen Angaben ist die starke Überlegenheit der in den humusführenden Bodenschichten nachweisbaren Bakterienfloren, verglichen mit denjenigen der humusarmen und humusfreien Zonen, zu ersehen, obwohl die meisten humushaltigen Materialien seit 68 Jahren in verschiedenen Bodentiefen gelagert waren.

Zürich, 10. Mai 1941.

Der Einfluß des Sauerstoffgehaltes auf die biologische Abwasserreinigung.

[Aus dem Laboratorium der Stadtentwässerung in Leipzig.]

Von **Karl Viehl.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Im Rahmen der Untersuchungen über das Wesen der Selbstreinigung und der künstlichen biologischen Abwasserreinigung, die sich u. a. mit dem Einfluß der Temperatur (1934, 1935, 1937, 1939), der Wasserstoffionenkonzentration (1932) und der Bakterien und Protozoen (1937 sowie G. Jäger) befaßt hatten, war auch über den Einfluß des Sauerstoffgehaltes auf den biochemischen Sauerstoffbedarf (BSB) und auf die natürliche Selbstreinigung des Wassers sowie auf die Wirkungsweise des Belebtschlamms berichtet worden (1940). In dieser Arbeit war gezeigt worden, daß bei der Bestimmung des BSB die Sauerstoffzehrung bei dem höchsten Sauerstoffgehalt, der im allgemeinen unter natürlichen Verhältnissen im Wasser vorkommt, also bei etwa 14 mg/l, am stärksten ist. Bei einem anfänglichen Sauerstoffgehalt von 3 mg/l war demgegenüber der BSB um 15% niedriger, bei 40 mg/l betrug die Verzögerung 30%. Es waren auch noch eingehende Belebtschlammversuche bei Sauerstoffkonzentrationen zwischen 0,8 und 5,4 mg/l durchgeführt worden. Der Sauerstoffgehalt wirkte sich dabei in demselben Sinne aus. Jedoch waren die Unterschiede in bezug auf Abnahme der organischen Substanz verhältnismäßig gering. Die Nitrifikationsgeschwindigkeit wurde jedoch sehr stark beeinflußt.

Es erschien nun von Interesse, noch Versuche über den Einfluß höherer Sauerstoffkonzentrationen auf die Schlammbelebung vorzunehmen. Derartige Sauerstoffkonzentrationen sind mit Luft nicht zu erreichen, sondern es muß dafür reiner Sauerstoff angewandt werden.

Für diese Versuche wurden ebenso, wie das für die früheren geschehen war, Laboratoriumsbelebtschlammanlagen nach Sierp benutzt. Es wurden gleichzeitig drei Anlagen betrieben. Anlage I wurde mit Preßluft belüftet, und zwar nur schwach, so daß der Sauerstoffgehalt des Wassers im Belüftungsbecken 0,7—2,3 mg/l betrug. Der Anlage II wurde ein Gemisch von Preßluft und reinem Sauerstoff zugeführt; der Sauerstoffgehalt des Wassers lag zwischen 8,9 und 15,3 mg/l. Anlage III wurde mit reinem Sauerstoff betrieben; das Wasser enthielt 28,0—38,7 mg/l. Es wurde dafür käuflicher Sauerstoff in Stahlflaschen verwandt. Die Luft und der Sauerstoff wurden ständig mit Differentialzugmessern gemessen und die Mengen möglichst konstant gehalten. Insgesamt waren die Gasmengen bei den einzelnen Anlagen ungefähr gleich groß. Eine mechanische Zerteilung des Belebtschlamms durch zu starke Bewegung, wie das bei der am stärksten belüfteten Anlage der früheren Versuchsreihe der Fall gewesen war, konnte also nicht eintreten. Die Versuche wurden zweimal durchgeführt. Für das erste Mal wurde Belebtschlamm von der Anlage Leipzig-Wahren verwandt. Da damit aber nur eine schwache Nitrit- und Nitratbildung erzielt werden konnte, wurde für den zweiten Versuch von einem Schlamm ausgegangen, der zusammengemischt war aus Belebtschlamm von zwei verschieden stark belüfteten Laboratoriumsanlagen und von der Belebtschlammanlage Leipzig-Wahren sowie aus Tropfkörperschlamm von der Anlage Leipzig-Leutzsch.

Die Versuche wurden in derselben Weise wie die früheren überwacht. Der Gehalt an organischem Kohlenstoff wurde jetzt noch mitbestimmt, und zwar durch nasse

Tabelle 1. Schlammbelebung bei verschiedenem

Versuch Nr.	Versuchstag	O_2-Gehalt im Belüftungsbecken mg/l	BSB_2 Abfl. mg/l	BSB_5 Abfl. mg/l	Organ. Kohlenstoff Abfl. mg/l	Permanganatverbrauch Abfl. mg/l	Schriftprobe Abfl. ccm
			Anlage I				
1	2— 5	1,30	3,85	8,3	—	77	27
2	2— 5	1,01	6,71	8,5	—	79	34
2	6—15	1,58	5,23	9,7	29,7	87	30
			Anlage II				
1	2— 5	13,8	1,97	6,2	—	71	33
2	2— 5	10,2	2,12	(6,7)[1]	—	75	45
2	6—15	12,3	3,63	7,2	22,8	81	38
			Anlage III				
1	2— 5	33,0	2,64	7,0	—	75	39
2	2— 5	32,7	3,57	4,1	—	76	50
2	6—15	33,9	4,65	8,6	25,8	82	39

[1]) Durch Nitrifikation beeinflußt.

Verbrennung mit Chromschwefelsäure. Da die Versuche mit Rücksicht auf den Verbrauch von komprimiertem Sauerstoff nicht sehr lange ausgedehnt werden konnten, wurden täglich, auch sonntags, Untersuchungen vorgenommen. Der Sauerstoffgehalt des Wassers in dem Belüftungsbecken wurde täglich zweimal ermittelt. Die übrigen chemischen Bestimmungen wurden teils täglich einmal, teils alle 2 Tage ausgeführt. Bei dem zweiten Versuch wurden auch Keimzahl (auf Gelatine-Agar bei Zimmertemperatur) und C o l i gehalt (auf Bromthymolblau-Agar bei 38°) des biologisch gereinigten Wassers bestimmt. Außerdem wurde der Belebtschlamm alle 2—3 Tage mikroskopisch untersucht.

Die Ergebnisse der c h e m i s c h e n U n t e r s u c h u n g e n sind aus Tab. 1 zu ersehen. Der Zufluß hatte i. M. einen zweitägigen BSB von etwa 160, einen fünftägigen BSB von etwa 250, einen Permanganatverbrauch von etwa 250 und einen Gehalt an organischem Stickstoff von 14 mg/l. In Übereinstimmung mit den Befunden über den Einfluß des Sauerstoffgehaltes auf den BSB war die Wirkung der Anlagen bei mittlerem Sauerstoffgehalt am besten. Doch sind auch hier die Unterschiede in bezug auf Abnahme der organischen Substanz geringer als bei den Untersuchungen über den BSB. Man wird das einmal damit erklären können, daß der im Wasser gelöste Sauerstoff bei der künstlichen biologischen Abwasserreinigung infolge der großen Organismenzahl und des hohen Enzymgehaltes, den das Wasser aufweist, weitgehender als bei der natürlichen Selbstreinigung erfaßt wird. Dazu kommt noch, daß bei der künstlichen biologischen Abwasserreinigung die Schmutzstoffe dem Wasser zum großen Teil durch Adsorption entzogen werden, und dieser Vorgang wird vielleicht durch eine Änderung des Sauerstoffgehaltes nicht so sehr beeinflußt wie der oxydative Abbau. Eine starke Abhängigkeit von der Sauerstoffkonzentration zeigt sich wieder bei der Nitrifikationsgeschwindigkeit. Diese ging auch bei hohem Sauerstoffgehalt stark zurück, wie sich das bereits bei den Untersuchungen über den BSB (1940, Tab. 2) gezeigt hatte. Damit steht die Angabe von W a k s m a n im Einklang, daß das Optimum der Nitratbildung im Boden bei einem Sauer-

Sauerstoffgehalt. Chemische Daten.

Stickstoff Abfl. mg N/l				Belebtschlamm				
Organ.	Ammoniak	Nitrit	Nitrat	Überschuß mg/l	% Gehalt nach 10 Min. Absetzen	% Gehalt nach 60 Min. Absetzen	% Wasser nach 60 Min. Absetzen	% Organ. Substanz/Trockensubstanz
				Anlage I				
4,2	30,5	0,0	0,1	—	63	26	99,46	70,3
4,7	29,4	0,0	0,0	166	53	24	99,28	69,8
3,2	39,3	0,1	0,0		69	32	99,62	74,4
				Anlage II				
3,6	30,3	0,9	1,2	—	52	21	99,23	69,6
3,2	27,4	4,0	0,9	183	40	19	99,12	68,4
—	27,8	9,0	2,2		40	19	99,26	73,3
				Anlage III				
4,2	31,4	0,5	0,9	—	36	16	98,96	68,6
3,8	28,0	1,6	0,5	189	33	17	98,74	67,8
3,0	39,5	1,3	0,5		19	12	98,12	71,2

stoffgehalt von 35—50% liegt und daß die Umsetzungsgeschwindigkeit bei 20 und 70% nur knapp halb so groß ist.

Die Wirkung der Anlage mit hohem Sauerstoffgehalt war in den ersten Versuchstagen in bezug auf Abnahme der organischen Substanz wie auch auf Nitrit- und Nitratbildung praktisch dieselbe wie späterhin. Die Gewöhnung der Mikroorganismen, die nach unseren Untersuchungen bei dem Einfluß der Temperatur eine große Rolle spielt, ist danach beim Sauerstoffgehalt nur von sehr geringer Bedeutung. Ebenso scheint auch nicht eine allmähliche Schädigung der Mikroorganismen und ein langsames Nachlassen ihrer Leistung durch den hohen Sauerstoffgehalt einzutreten.

Bei unseren früheren Versuchen hatten wir bereits festgestellt, daß eine Änderung gewisser Faktoren wie Temperatur oder Wasserstoffionenkonzentration sich auf die Nitrifikation viel mehr auswirkt als auf den Abbau der organischen Substanz. Dasselbe gilt also auch für den Sauerstoffgehalt. Ähnliche Angaben macht Leroux für den Einfluß von Spurenelementen auf die Umsetzungen im Boden. Die unterschiedliche Wirkung dieser Faktoren auf die verschiedenen biologischen Vorgänge wird eine Folge davon sein, daß die meisten organischen Substanzen durch sehr viele Arten von Mikroorganismen abgebaut werden können, während es nur verhältnismäßig wenig nitrifizierende Bakterienarten gibt. Man wird annehmen können, daß der günstigste Bereich hinsichtlich Sauerstoffgehalt, Temperatur oder Wasserstoffionenkonzentration für die einzelnen Mikroorganismenarten, die den Abbau der organischen Substanz vornehmen, im allgemeinen ähnlich eng begrenzt ist wie für die nitrifizierenden Bakterien. Jedoch liegen die Optima für die einzelnen Arten zum Teil sehr verschieden. Je größer nun die Zahl der Organismen ist, die eine bestimmte Umsetzung vornehmen können, um so größer ist die Wahrscheinlichkeit, daß sich darunter auch Arten mit einem verhältnismäßig hohen oder niedrigen Optimum befinden; in um so ge-

ringerem Maße wird diese Umsetzung durch eine Änderung gewisser Bedingungen beeinflußt werden. So berichtet auch Löhnis, daß die Stickstoffbindung im Boden bei 10, 20 und 30° mit annähernd gleicher Geschwindigkeit vor sich gehen kann, während bei Laboratoriumsversuchen mit Reinkulturen große Unterschiede bestehen, was er auch damit erklärt, daß es sich in der Erde um ein kompliziertes Mikrobengemisch handelt.

Der Anfall an Überschußschlamm-Trockensubstanz war bei der Anlage mit niedrigem Sauerstoffgehalt etwas geringer als bei den beiden anderen. Der Wassergehalt des Schlammes nahm mit steigendem Sauerstoffgehalt stark ab. Auch der Gehalt des Schlammes an organischer Substanz ging etwas zurück. Daraus kann man schließen, daß der Abbau der ungelösten organischen Substanz im Gegensatz zu dem der gelösten bei hohem Sauerstoffgehalt etwas schneller verläuft als bei mittlerem, was wohl darauf zurückzuführen sein wird, daß der Sauerstoff dann weiter in die ungelösten Teilchen eindringt und so auch in tieferen Schichten noch genügend Sauerstoff zur Verfügung steht.

Tabelle 2.
Keimzahl und Coligehalt des biologisch gereinigten Wassers von Versuch 2.

Versuchstag	Keimzahl (Agar-Gelatine bei Zimmertemperatur)			Coli (Bromthymolblau-Agar bei 38°)		
	Anlage I	Anlage II	Anlage III	Anlage I	Anlage II	Anlage III
2	—	—	—	10 000	12 000	9 000
4	570 000	160 000	110 000	(44 000)	5 000	1 000
7	210 000	180 000	300 000	16 000	12 000	5 000
8	82 000	45 000	75 000	1 000	1 000	3 500
9	130 000	127 000	210 000	2 000	3 000	2 500
10	120 000	152 000	230 000	5 000	15 000	9 000
11	260 000	80 000	145 000	14 000	3 000	3 000
13	96 000	30 000	270 000	2 000	200	2 000
14	55 000	32 000	150 000	2 000	400	4 700
15	190 000	82 000	116 000	3 000	1 000	1 100
Durchschnitt	193 000	99 000	178 000	9 900 (6 100)[1]	5 2060	4 080

[1]) Ohne den Wert vom 4. Tage.

Tab. 2 zeigt die Ergebnisse der bei dem zweiten Versuch von den Abflüssen der drei Anlagen vorgenommenen bakteriologischen Untersuchungen. Die Gesamtkeimzahl war bei mittlerem Sauerstoffgehalt am niedrigsten. Dagegen scheint der Coligehalt mit zunehmendem Sauerstoffgehalt des Wassers zurückzugehen. Da B. coli ein fakultativ anaerober Mikroorganismus ist, kann man auch annehmen, daß er hohe Sauerstoffkonzentrationen nicht liebt.

Tab. 3 enthält Angaben über die häufiger vorkommenden Arten, die bei der biologischen Untersuchung des Belebtschlamms festgestellt wurden. Zoogloeen und kleine Mastigophoren wurden der Menge nach geschätzt, während die übrigen Arten mit Hilfe der früher beschriebenen (1932) Zählkammer ausgezählt wurden. Auffallend gering sind die Unterschiede bei den Ziliaten. Eine ausgesprochene Schädigung dieser Organismen durch den hohen Sauerstoffgehalt tritt also nicht ein. Deutliche Abweichungen bestehen hinsichtlich der Mastigophoren, die in der Anlage mit hohem Sauerstoffgehalt fehlen, während sie in Anlage I stark vertreten sind.

Tabelle 3.
Zahl der Mikroorganismen in 1 ccm Belebtschlamm-Wassergemisch aus dem Belüftungsbecken.

	Anlage I (niedriger O_2-Gehalt)			Anlage II (mittlerer O_2-Gehalt)			Anlage III (hoher O_2-Gehalt)		
	Vers. 1	Versuch 2		Vers. 1	Versuch 2		Vers. 1	Versuch 2	
	3.–5. Tag	4.–9. Tag	11.–15. Tag	3.–5. Tag	4.–9. Tag	11.–15. Tag	3.–5. Tag	4.–9. Tag	11.–15. Tag
Zoogloeen . .	++	++	—	++	+	—	++	—	—
Sphaerotilus .	++++	+++	++++	+++	+++	+++(+)	(++)	+	+
Kleine Mastigophoren . . .	+	+	++	—	—	+	—	—	—
Astrosiga . .	80	500	1700	20	40	450	40	—	—
Lionotus . . .	800	160	110	700	500	230	1000	1050	600
Chilodon . . .	—	—	—	—	—	40	—	40	130
Aspidisca cost.	320	1900	180	240	2200	1100	120	1300	400
Paramaecium .	40	90	50	60	25	10	60	10	—
Euplotes . . .	10	—	—	80	40	20	100	—	40
Stylonichia . .	200	15	—	400	80	130	600	400	200
Vorticella . .	160	750	220	80	400	40	120	400	70
Opercularia berb.	2100	1400	350	2100	2200	3100	3700	2500	2500
Podophrya . .	—	25	—	20	15	20	—	—	—
Tokophrya . .	—	10	10	—	20	—	10	20	—
Nematoden . .	80	15	10	120	40		50	10	20
Rotatorien . .	—	—	—	10	—	—	—	—	—

Auch bei den früheren Untersuchungen hatten wir eine starke Abhängigkeit des Mastigophorengehaltes vom Sauerstoffgehalt beobachtet; besonders zahlreich waren diese im Belebtschlamm der am schwächsten belüfteten Anlage dieser früheren Versuchsreihe gewesen, bei der der Sauerstoffgehalt i. M. nur 0,8 mg/l betragen hatte. Auch von anderer Seite (Ardern) ist beobachtet worden, daß schwach belüfteter Belebtschlamm sehr viel Mastigophoren enthält. Am meisten unterschied sich der Belebtschlamm der drei Anlagen aber in bezug auf den Sphaerotilusgehalt und damit in seinem ganzen Aussehen. Der Schlamm von Anlage I war durchsetzt von Sphaerotilusfäden, die wirr durcheinander lagen und außerdem stark (unecht) verzweigt waren. Er war dadurch aufgelockert und erhielt eine sperrige Struktur (Abb. 1). Es handelte sich also um einen ausgesprochenen Blähschlamm mit hohem Wassergehalt. Der Schlamm von Anlage II enthielt auch viel Sphaerotilus. Die Fäden waren aber etwas geordneter, so daß der Schlamm nicht so locker war. Im Schlamm von Anlage III dagegen waren Sphaerotilusfäden nur ganz vereinzelt vorhanden. Er war daher sehr dicht und hatte eine körnige Struktur (Abb. 2). Er zerfiel aber leicht in sehr kleine Teilchen und ließ sich daher, obwohl er schnell absetzte, auf einem Papierfilter schlechter entwässern als der von den beiden anderen Anlagen, da sich die Filterporen schnell verstopften.

Um festzustellen, ob die geringe Entwicklung des Sphaerotilus bei hohem Sauerstoffgehalt auf eine direkte Beeinflussung durch den Sauerstoff zurückzuführen ist, wurde noch folgender Versuch durchgeführt. 1 Teil Sphaerotilus-haltiger Belebtschlamm wurde mit 2 Teilen Leitungswasser und 3 Teilen einer Nährlösung versetzt, die außer anorganischen Salzen in 1 l 3 g Trauben-

zucker, 1 g lösliche Stärke und 0,5 g Pepton enthielt, also Substanzen, die die Sphaerotilusentwicklung begünstigen. Je 3000 ccm dieses Gemisches wurden in 2 Standzylinder gegeben. Der Inhalt des einen wurde mit Preßluft, der des anderen mit Sauerstoff behandelt. Täglich einmal wurde die Hälfte des Wassers, nachdem sich der Schlamm abgesetzt hatte, abgehebert und durch neue Nährlösung ersetzt. Außerdem wurden aus beiden Anlagen zur Beseitigung des Überschußschlammes täglich 500—1000 ccm Belebtschlamm-Wassergemisch entfernt und durch Leitungswasser ergänzt. Nach 6—8 Tagen war der Sphaerotilusgehalt des Belebtschlammes in der mit Sauerstoff betriebenen Anlage deutlich weniger (++) als in der anderen (+++ bis ++++). Immerhin war er aber noch höher als in der mit Abwasser beschickten Anlage, die mit Sauerstoff betrieben wurde (Tab. 3). Daher erscheint es zweifelhaft, ob es sich bei dem Rückgang des Sphaerotilus im vorhergehenden Versuch ausschließlich um einen direkten Einfluß des Sauerstoffes handelt. Vielmehr ist es als möglich anzusehen, daß noch eine indirekte Wirkung dazukommt, indem der Abbau bei hohen Sauerstoffkonzentrationen anders verläuft als bei niedrigen und so der Sphaerotilus durch die verschiedenartigen Abbauprodukte beeinflußt wird.

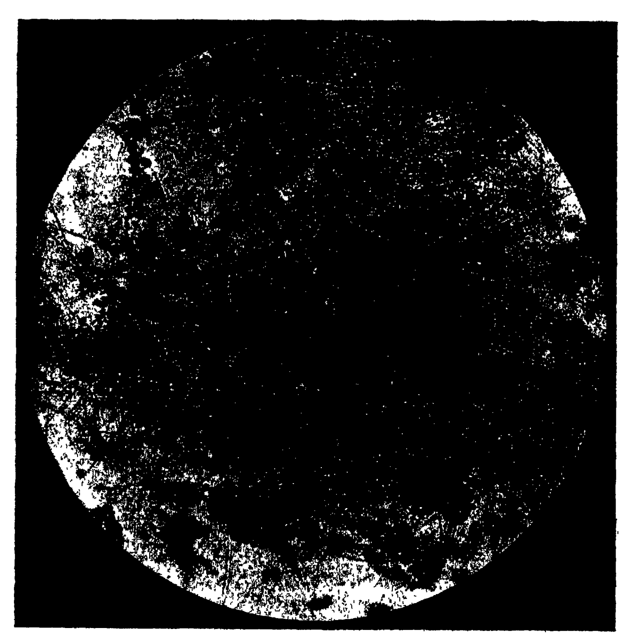


Abb. 1. Belebtschlamm bei niedrigem Sauerstoffgehalt (etwa 1,6 mg/l).

Diese Annahme findet eine Stütze in dem Ergebnis von eingehenden Versuchen über die Ursache der Blähschlammbildung, die wir vor einigen Jahren vorgenommen hatten, die aber noch nicht veröffentlicht worden sind, weshalb hier noch kurz darauf eingegangen werden soll. Bei diesen Versuchen waren zwei Laboratoriums-Belebtschlammanlagen gleichzeitig ein Jahr lang mit frischem bzw. angefaultem Abwasser, aber unter sonst gleichen Bedingungen, betrieben worden, und zwar wurde der Zufluß in dem einen Fall, bevor er auf die Anlage gegeben wurde, etwa 6 Std. lang schwach belüftet und im anderen Fall unter Luftausschluß bei 20—25° stehen gelassen, nachdem er vorher noch mit Faulschlamm beimpft worden war. Der Belebtschlamm von der Anlage mit fauligem Zufluß enthielt wesentlich mehr Sphaerotilus und hatte i. M. nur einen knapp halb so hohen Trockensubstanzgehalt wie der von der anderen Anlage. Besonders groß waren die Unterschiede, als die Anlage nicht gleichmäßig durchflossen, sondern stoßweise beschickt wurde (Füllen und Ablassen). Der Schlamm von den Becken

mit fauligem Zufluß glich dann in seiner Struktur weitgehend dem von der Anlage mit niedrigem Sauerstoffgehalt (Abb. 1) und der von dem Becken mit frischem Zufluß dem von der Anlage mit hohem Sauerstoffgehalt (Abb. 2). Ein Zusatz von Chlor zum Zufluß entsprechend dem Chlorbedarf hatte keinen deutlichen Einfluß auf die Sphaerotilusentwicklung, woraus man schließen kann, daß nicht die verschiedenartige Bakterienflora als solche die Unterschiede hervorgerufen hat. Ebensowenig konnte durch einen Zusatz von Schwefelwasserstoff in den Mengen, in dem er in dem angefaulten Abwasser enthalten war (1—6 mg/l), ein dichter Schlamm zum Aufblähen gebracht werden. Somit wird man die Hauptursache fur die unterschiedliche Entwicklung des Sphaerotilus bei den Versuchen mit frischem und fauligem Zufluß darin zu sehen haben, daß in dem fauligen Zufluß organische Abbauprodukte, die die Sphaerotilusbildung begunstigen, in größeren Mengen vorhanden waren, während diese in dem frischen Zufluß fast fehlten. Als derartige Verbindungen kommen z. B. niedere Fettsauren in Frage, die ein guter Nährboden fur Sphaerotilus sind und die, wie wir feststellen konnten, bei der anaeroben Zersetzung in viel starkerem Maße als bei der aeroben gebildet werden. Es ist nun jedenfalls denkbar, daß derartige Verbindungen bei niedrigem Sauerstoffgehalt noch in großeren Mengen entstehen, wenn auch nicht so viel wie unter vollkommenem Luftausschluß, daß sie aber bei hohen Sauerstoffkonzentrationen nicht gebildet werden. Dieser Umstand würde dann mit dazu beigetragen haben, die verschieden starke Entwicklung des Sphaerotilus bei den Untersuchungen über den Einfluß des Sauerstoffgehaltes zustande zu bringen.



Abb. 2. Belebtschlamm bei hohem Sauerstoffgehalt (etwa 34 mg/l).

Zusammenfassung.

In Fortsetzung der Untersuchungen über das Wesen der Selbstreinigung des Wassers wurden drei Laboratoriums-Belebtschlammanlagen bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen, aber unter sonst gleichen Bedingungen, betrieben. Bei Anlage I betrug der Sauerstoffgehalt i. M. etwa 1,5, bei Anlage II 12,0 und bei Anlage III 33,0 mg/l. Die Wirkung der Anlagen war in Übereinstimmung mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen über den Einfluß des Sauerstoffgehaltes auf den biochemischen Sauerstoffbedarf bei

mittlerem Sauerstoffgehalt am besten. Doch waren die Unterschiede in bezug auf Abnahme der organischen Substanz gering. Dagegen wurde die Nitrifikation stark beeinflußt. Die Beschaffenheit des Abflusses der einzelnen Anlagen war in den ersten Tagen des Versuches ganz ähnlich wie zum Schluß, so daß im ganzen weder eine Gewöhnung der Mikroorganismen an den hohen Sauerstoffgehalt noch eine allmähliche Schädigung durch diesen einzutreten scheint. Die Keimzahl des biologisch gereinigten Abwassers war bei Anlage II am niedrigsten, während der Coligehalt mit steigendem Sauerstoffgehalt des Wassers etwas zurückging.

Der Belebtschlamm der drei Anlagen unterschied sich in bezug auf den Ziliatengehalt nicht sehr stark. Mastigophoren waren aber nur in der Anlage I zahlreich vertreten und fehlten bei Anlage III fast ganz. Der Schlamm von Anlage III enthielt auch nur sehr wenig Sphaerotilus und hatte einen hohen Trockensubstanzgehalt, während der von Anlage I ganz mit Sphaerotilusfäden durchsetzt war. Diese waren stark verzweigt und lagen wirr durcheinander, so daß der Schlamm sehr locker war und nur schwer absetzte. Bei mittlerem Sauerstoffgehalt war auch noch viel Sphaerotilus vorhanden. Er hatte aber in diesem Falle keine so sperrige Struktur, und der Schlamm hatte infolgedessen einen etwas geringeren Wassergehalt als der von Anlage I. Diese Unterschiede im Auftreten und der Struktur des Sphaerotilus sind vielleicht außer auf eine direkte Wirkung des Sauerstoffes noch darauf zurückzuführen, daß der Abbau bei den verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen verschieden verläuft und daß nun die Abbauprodukte selbst auch einen Einfluß ausüben. Diese Annahme findet eine Stütze in der früher von uns gemachten Feststellung, daß die Blähschlammbildung durch anaerobe Zersetzungsprodukte begünstigt wird.

Literatur.

Ardern und Lockett, Surveyor. 2305. 1936. S. 475—476. — Jäger, G., Ztschr. f. Hyg.-Inf. Bd. 120. 1938. S. 620—625. — Leroux, D., Compt. Rend. hebd. Séances Acad. Sci. T. 210. 1940. p. 770—772. Ref. Chem. Zentralbl. Bd. 1. 1941. S. 948. — Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftl. Bakteriologie. Bd. 2. Berlin (Bornträger) 1935. S. 433. — Viehl, K., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 34—43; Bd. 91. 1934. S. 14—39; Gesundh.-Ing. Bd. 58. 1935. S. 555—558; Jahrb. Vom Wasser. Bd. 12. 1937. S. 246—259; Ztschr. f. Hyg. Bd. 119. 1937. S. 383—412; Bd. 122. 1939. S. 81—102; Bd. 122. 1940. S. 533—549. — Waksman, S. A., Principles of soil microbiology. Baltimore 1927. p. 535.

Nachdruck verboten.

Microbiology of canned vegetables.

[Department of Bacteriology, Research Laboratory of the Norwegian Canning Industry, Stavanger, Norway.]

By **Valborg Aschehoug** and **Rolv Vesterhus.**

Canning of vegetables as well as freezing constitute the ideal way of preserving these valuable food stuffs which according to modern knowledge of nutrition is of outstanding importance in our diet. The microbiology of vegetables is especially of importance when food preservation by canning is considered. On account of the chemical composition of the vegetables a minimum processing during the manufacture must be used, otherwise a disintegration and softening of the texture of the vegetables would occur. The question of complete or commercial sterility of canned vegetables is of great importance. Information regarding the types of organisms which survive the sterilization process is of considerable interest, as well as their behaviour during storage of the products. Considering the canning of vegetables from a health point of view, it should be taken into consideration that not unimportant amounts of these products are in our country home-canned, procedures being used which by no means must be considered as adequate, and which yield products that may subject those who use them to serious health hazards.

The purpose of our experimental work was to contribute to the present knowledge of the microbiology of canned vegetables by examining the types and characteristics of the microorganisms which would cause spoilage in underprocessed vegetables, the packing which was carried out in our laboratory covering 10 different kinds of vegetables packed during three seasons. As this problem had some bearing on the value of home canning as procedure for preserving vegetables, the sanitary side of the question was also investigated by the use of experimental animals.

Historical.

Barlow [1913] (1) investigating different kinds of vegetables and working especially with underprocessed corn,demonstrated for the first time that thermophilic bacteria caused flat sour spoilage of canned foods. According to his experiments the holding of corn before canning did not cause the flat sour infection. His results were not well known and the opposite view was prevalent till 1926. Weinzirl [1919] (24) examined 1018 samples of various types of canned food purchased on the market. Of these samples 169 were spoiled or suspected. Weinzirl concluded that commercial canned foods were not always sterile, but contained viable spores usually of the Mesentericus types. Organisms of the food poisoning type were not encountered. Cheyney [1919] (8) examined 725 merchantable samples of canned foods including vegetables, meats, fish and fruits of which 8 per cent were found to contain viable microorganisms that belonged as well to the Subtilis-Mesentericus group as to the thermophiles.

As a valuable contribution to knowledge of commercial sterility of canned foods the investigation of Savage, Hunwicke and Calder [1922] (15) must be mentioned. Their work included the examination of canned meat and fish. The results obtained confirmed the findings of earlier investigators as to the non-sterility of sound commercial samples. They failed, however, to consider the importance of nongaseous acid fermentation of canned foods which is specially typical for canned vegetables.

Wyant and Tweed [1923] (25) examined 3 samples of flat sour cold-packed peas and described an anaerobic thermophilic organism.

Cameron and Esty [1926] (6) made a bacteriological study of 439 lots of non-acid sound and spoiled canned foods including different kinds of vegetables from which 214 cultures were isolated. The flat sour organisms could be classified in two large thermophilic groups of which one was facultative, the nearest classification according to Bergey's descriptions being Bacillus thermotranslucens and Bacillus thermoliquefaciens. The other, an obligate thermophilic, was considered as being identical with Bacillus stearothermophilus described by Donk [1920] (9). Inoculation experiments in canned vegetables with the flat sour organisms showed that they were capable of causing the typical flat sour condition of a variety of vegetables.

Cameron, Williams and Thompson [1928] (7) made an extensive survey of thermophilic spoilage in canneries. The contamination in the canning of peas and corn was mainly due to spore-forming thermophilic organisms causing flat sour spoilage, the origin of which was found to be in the factory itself, in the wooden tanks containing water or brine, and in the blanching and filling machines where the temperature favoured the growth of thermophiles. The sugar used often contained these organisms and was a serious source of infection. The raw products, corn and peas, carried very few thermophilic spores. These results confirmed the opinion advanced by Barlow [1913] (1) that the holding of vegetables before canning was not a cause of flat sours.

Sunderlin, Nelson and Levine [1928] (16) examined the home canning methods in an extensive study using 2732 jars of vegetables and meats. These products were processed in boiling water for different lengths of time, 4 hours process being the longest. This period of heating used for corn was inadequate as 15 per cent of the jars spoiled.

Esty [1929] (10) made an investigation of spoilage organisms isolated from acid or semi-acid canned foods. Four distinct groups of causative agents in the spoilage of these products were isolated:

Group I: Facultative anaerobes, non-spore forming coccoid bacilli, producing acid and gas in carbohydrate medium.

Group II: Facultative anaerobes, non-spore forming coccoid bacilli, producing acid but no gas.

Group III: Obligate anaerobes, clostridia, with oval spores were found in canned vegetables, but not in acid products like tomatoes and fruits.

Group IV: Flat sour organisms which were facultative anaerobes and had their optimum growth at 27° C.

Townsend [1929] (22) made a report of an investigation of spoilage organisms in canned fruits and vegetables. The organisms isolated were quite similar to those found by Esty (10). Paine [1931] (14) examined the heat resistance of thermophilic anaerobes isolated from canned vegetables and reported that the spores of these organisms show a high thermal resistance.

The question of autosterilization of canned vegetables was examined by Tanner, Echelberger and Clark [1932] (21). Canned corn was inoculated with several spoilage bacteria including flat sour producing microorganisms and incubated at different temperatures. At 55° C. a lethal H ion concentration was reached much more quickly than at 37° C. In one experiment no viable bacteria could be found in the inoculated corn after 28 days of storage at 55° C. when the pH was 4.8, in another experiment viable cells were absent after 9 days. Autosterilization could not be demonstrated with an organism producing putrefactive spoilage of corn.

Regarding the sanitary side of the question of home canning, Tanner [1934] (17), [1935] (18), [1935] (19) calls attention to constantly occuring outbreaks of Botulism caused by home canned foods and concludes that the boiling water process for non-acid foods, being wholly inadequate, should be abandoned as a wasteful, dangerous method.

McMaster [1935] (12) made a study of flat sour spoilage in canned peas, investigating the organisms present in 24 samples of sugars used in the manufacture and 8 samples of blancher-water. The strains isolated from the blancher-water belonged to the same group as those from the sugar. Only facultative thermophilic bacteria were found. The author concludes that even if the heat resistance of these organisms is less than that of the obligate types, they may, introduced in large numbers survive the processing and cause spoilage during storage, as they will develop at 37° C.

M i c h a e l and T a n n e r [1936] (13) investigated the microbiology of merchantable cream-style canned corn. Of 900 cans of commercially sound corn examined 24 per cent contained viable organisms. The cultural characteristics of 256 strains of microorganisms isolated were studied and showed that 215 belonged to one group and possessed characteristics quite similar to the members of the B a c i l l u s s u b t i l i s group and would develop under anaerobic conditions. With a few exceptions all were facultative thermophiles. Acid producing organisms including 12 flat sours could not be induced to grow on laboratory media, autosterilization having probably occured.

B o t h e [1938] (5) studied acid producing bacteria in different kinds of canned vegetables. Of the total number of unsterile cans examined only 1/5 contained thermophilic acid-producing organisms identical with the species described by D o n k (9). By far the most important were the mesophilic types having their optimum temperature at about 30° C. These bacteria are the most predominant as spoilage organisms, finding favourable conditions of growth at temperatures characteristic for the climate of Germany. They show high heat-resistance. Cultivation of these organisms is often rendered impossible on account of autosterilization. As a source of contamination, especially of asparagus, the soil seemed to be of importance. The infection varied greatly with the locality of the fields, some samples of soil being almost free from highly heat-resistant, acid-producing organisms, some being heavily infected.

From the survey of this literature concerning the microbiology of canned vegetables, the following conclusions can be drawn: Considerable numbers of merchantable cans show only commercial sterility. Viable organisms are present, but do not develop when the cans are subjected to the conditions of commercial storage.

Of the spoilage organisms the flat sour producing bacteria with highly heat-resistant spores seem to be the most important. Starchy vegetables like peas and corn are especially subject to this kind of spoilage.

Home canning procedures with processing at boiling water temperature are wholly inadequate and from a health point of view not to be recommended.

This paper is concerned with the study of spoilage organisms in different vegetables including the most important kinds used for canning purposes. Our experimental packs were purposely underprocessed, fractional sterilization at boiling water temperature being used. Our aim was to establish the significance of various types of organisms surviving the processing, according to the frequency with which they occur in underprocessed vegetables, special stress being laid upon the importance of the spoilage organisms that would develop during storage of the cans at different temperatures. The question of food-poisoning by home canned vegetables was also investigated.

Experimental.

As the bacterial load in the vegetables at harvesting may be subject to local, climatic and seasonal fluctuations, our investigation was extended to a period of three years. We hoped in this way to obtain a cross section of the bacterial flora in canned vegetables.

Our experimental packs were carried out with the following 10 different kinds of vegetables: Peas, asparagus-beans, string beans, mushrooms, asparagus, mangold, carrots, edible podded peas, cauliflower and mixed roots. The freshly harvested vegetables were blanched for three minutes in boiling brine and cooled in running water, after which they were packed in 500 grams cans with 2% cold brine. For carrots, edible podded peas (sugar-peas) and marrow peas the brine also contained 0.5% sugar. The processing used was the same as that usually recommended by the home canning procedures, i. e. fractional sterilization for 20 minutes at boiling water temperature on

two successive days. Our packing material consisted of 523 cans. Considering the importance of tight closure of the cans, a very close inspection was done, and the seams of the containers were after removal of samples for sterility tests examined exactly to acsertain that nonsterility in no case was due to faulty seams. Our experimental packs were divided into 4 sets which were incubated at respectively 55° C., 37° C., 22° C. and 10° C., thus encouraging the development of different kinds of bacteria, the lowest temperature 10° C., which is normal cellartemperature, corresponding to the regular storage temperature for home canned foods. All the cans were inspected at regular intervals, and any can giving evidence of bacteriological activity by showing bulged ends was removed and subjected to bacteriological examination. The cans packed the first year and kept at the two highest temperatures were inspected regularly for two months, while the series stored at the lowest temperatures had an observation time of one year. With the experience from our first year's packs a shorter incubation period was used with the packs the two following years, namely respectively 11 and 17 days for the cans stored at 55° C. and 37° C., and 3 months for the sets stored at the two lower temperatures.

The bulging of the cans was first observed with the set incubated at 55° C., a great part of the cans being in a blown condition already after 2 days. For the set incubated at 37° C. the blowing was evident after 2 days, and other cans started to blow in the lapse of 2 weeks. For the set incubated at 22° C. the blowing was not evident till 2 weeks, and for some cans only after 3 to 4 weeks. As for the set incubated at the lowest temperature (10° C.) no blowing was observed except for one kind of vegetables, namely mangold leaves. All the cans that remained in a normal condition after the incubation period, were subjected to a sterility test, the cans held at the two highest temperatures being examined directly, while the other cans were given a short incubation period, first at 37° C. and later at 55° C., for about a fortnight in all, according to our usual procedure for sterility tests.

The technic for examining and culturing the cans was that generally adopted in bacteriological studies of canned foods. A review of the general procedure is given by Tanner (20). After the incubation period the cans to be examined were thoroughly cleaned with alcohol which was burned off. In the center of the cover a hole was made with a sterilized metal instrument. Through this aperture samples were removed aseptically from the can by sterile Pasteur pipettes wide enough to permit some of the solid parts of the contents together with the brine to be removed. These samples were transferred to sterile tubes containing enrichment media, standard plain and dextrose nutrient broths pH 7 besides litmus milk being used. Special media containing sterile vegetable extracts used at the beginning of this investigation did not offer any advantage, and was later abandoned. For the development of anaerobic bacteria deep brain medium and cooked meat medium were used and found very suitable. All of our anaerobic cultures were kept in Zeizler's vacuum jars which secured complete anaerobiosis throughout the period of incubation, which lasted for at least a week both for the aerobic and anaerobic cultures kept at 55° C. and 37° C. As for the sterility of our enrichment media due consideration was taken to the importance of this question, and checks were often made on the sterility of tubes and glassware.

After having removed aseptically for incubation and further bacteriological studies samples from the can, the contents were examined closely,

colour, odour and consistency being noted and accurate determination of pH value of the brine being determined by hydrogen electrode. From the brine smears were made directly, Gram stained, and record was made of the apparent condition of the flora, whether this was mixed or in pure culture, and if spores were present. Very valuable information was obtained by these stained films, especially for the cans containing acid-forming bacteria, becoming autosterilized on storage, and from which no viable organisms later could be cultivated.

The enrichment cultures stored at 55° C. and 37° C. under as well aerobic as anaerobic conditions were at the end of the incubation period examined microscopically, and served as starting point for isolation of aerobic and anaerobic bacteria, plain nutrient agar being used for plates and deep cultures in Burri tubes. Considerable difficulties were encountered in separating obligate anaerobic bacteria growing in symbiosis with facultative aerobic types present in highly understerilized products like mangold leaves. Here surface culture methods, with agar plate cultures in Petri dishes kept during incubation under anaerobic condition in Zeizler's jar, were alternated with deep culture method, Burri tubes being used. Typical colonies were transferred to cooked meat medium for enrichment of anaerobes, and isolation from agar surface cultures or deep agar was again tried out. This procedure was repeated until aerobes no longer appeared in the aerobic checks. Sometimes four to five series of such cultures were necessary to eliminate the facultativ aerobic types.

When pure cultures were obtained, their morphological and cultural characteristics were established, use being made of the 1929 Desciiption Chart of the Society of American Bacteriologists. Thermal death point determinations were made upon a few strains. For classification of our cultures Bergey's Manual of Determinative Bacteriology was made use of (3).

Results of examination.

Table 1 summarizes the results of our studies on the sterility of 523 cans of different kinds of vegetables, including the experimental packs of the years 1938, 1939 and 1940.

In the following the bacterial decomposition of the products and the corresponding organisms responsible for the physical and chemical changes of the canned vegetables will be discussed for each separate product.

Peas: According to the above cited literature peas and corn are the kinds of vegetables that are most exposed to bacterial spoilage. Serious outbreaks of spoilage have in the past been experienced in the industry with these vegetables. During the canning of peas it must be considered that the pea juice offers a favourable medium for the development of different types of bacteria, owing to as well its protein content as its pH value, which for canned peas is 6.2—6.4. For the flat sour organisms the presence of starch and sugar in the pea juice is of special importance. In table 1 the pH values for the different canned vegetables are given (column 1). They all lie in the acid range, peas being the least acid, thus contributing to make this medium favourable for bacterial growth.

About half of the 58 cans of peas examined were "swells" which represented principally the cans incubated at 37° C., but could also be demonstrated in the 55° C. and 22° C. series. The contents of these cans had a pu-

Table 1.

The comparative insterility of underprocessed vegetables stored at different temperatures.

Product	pH Aver.	No. of cans examined	55° C.			37° C.		
			Unsterile		Ste-rile	Unsterile		Ste-rile
			Condition of can			Condition of can		
			Swell	Flat		Swell	Flat	
Peas	6.3	58	5	2	8	10	3	2
Asparagus-beans . .	5.45	98	12	3	15	10	5	15
String beans	5,2	76	24	0	1	20	3	2
Mushrooms	5.5	20	0	10	0	4	6	0
Asparagus	5.4	7	—	—	—	4	2	1
Mangold leaves . . .	5.5	47	5	6	0	10	3	0
Carrots	5.1	56	0	3	14	0	1	13
Edible podded peas and carrots	5.2	28	1	0	6	2	0	6
Mangold stalks . . .	5.3	71	0	1	16	0	0	18
Cauliflower	5.5	36	1	0	7	0	0	10
Mixed roots	5.1	26	0	1	7	1	2	3
			22° C.			10° C.		
Peas	6.3	58	5	7	2	0	4	10
Asparagus-beans . .	5.45	98	1	5	13	0	0	19
String beans	5.2	76	2	3	8	0	6	7
Mushrooms	5.5	20	—	—	—	—	—	—
Asparagus	5.4	7	—	—	—	—	—	—
Mangold leaves . . .	5.5	47	9	3	0	2	9	0
Carrots	5.1	56	0	0	13	0	0	12
Edible podded peas and carrots	5.2	28	0	0	6	0	0	7
Mangold stalks . . .	5.3	71	1	0	18	0	1	16
Cauliflower	5.5	36	0	1	8	0	1	8
Mixed roots	5.1	26	0	0	6	0	0	6

trid odour. The brine was cloudy, and the peas were partly disintegrated. From all these cans an obligate anaerobic spore-forming bacterium capable of producing gas in the canned product, was isolated which was identified as *Clostridium sporogenes*. In order to prove that the putrifaction of the canned product was due to the growth of this organism, a series of 65 grams cans previously sterilized at 119° C. for twenty minutes, which is considered as a safe processing for peas in this size of container, was inoculated with a spore suspension from the isolated strains of *Clostridium sporogenes*. For this inoculation we availed ourselves of the method by Gillespy (11) by which no air was admitted to the cans during the inoculation. The inoculated cans were incubated at 37° C. and all swelled within a few days. The contents of the cans showed the same bacterial decomposition of the peas as was found in our original packs.

As for the presence of *Clostridium sporogenes* in the underprocessed cans this organism was in half of the swelled cans present in pure culture, in the other half an aerobic bacillus belonging to the *Subtilis-Mesentericus* group could be isolated. This organism was likewise inoculated in small cans with sterile peas and incubated at 37° C. As there

was no external sign of spoilage of the can after ten days' incubation, and the contents of the cans were normal, this group of bacteria seems to be of no significance in the spoilage of canned peas.

The flat sour producing organisms are definitely established as significant spoilage agents in the canning of peas owing to the high thermal resistance of the spores. In 16 of our cans we could demonstrate the presence of flat sour organisms which were found in the different series, also in the cans kept at the two lowest temperatures and incubated for a short time at 37° C. and 55° C. prior to the sterility test. The contents of the cans had a distinctly acid odour and taste, but the appearance of the peas was normal, and the brine was clear, in a few cases viscous. The pH in the various cans ranged from 4.5 to 5.2, the normal value for peas being about 6.3.

Considerable difficulties were experienced in our attempts to isolate the causative organisms. Direct microscopical examination revealed in all cases numerous rods, but most of our attempts to make the bacteria grow on laboratory media, both aerobically and anaerobically, failed in spite of repeated transfers. Only in four cases we succeeded in isolating the flat sour producing organisms. The difficulty of recovering the acid producing organisms is in accordance with the findings of other workers. Tanner, Echelberger and Clark (21) demonstrated "autosterilization" with corn inoculated with flat sour producing microorganisms. Bothe (5) examining several thousand cans of flat sour vegetables reported the pH to be 4.7—4.5 and advanced the opinion that the causative organisms must be susceptible to the acid formed in their own metabolism, since they could not be cultivated.

The flat sour organisms recovered from four cans were facultative anaerobic spore-forming and were present in pure culture. They were isolated from cans stored at different temperatures as well from the 55° C. and 37° C. series, as from the 22° C. series. We must, however, take it as granted that the same kind of organisms had been present also in the cans stored at the lowest temperature, as the contents of the cans from this series had the same acid odour and taste, and a microscopical examination revealed the same kind of rods as in the other flat sour cans. The organisms could, however, not be recovered.

As for the strains isolated their optimum temperature was about 37° C., but they would also develop at 55° C., while lower temperature, for instance 22° C., was less favourable for their growth. Of the four strains three seemed to belong to the same species, having thin, slender rods, while the fourth species differed morphologically, having short, thick rods sometimes in chains. By inoculation of these flat sour organisms in sterile 65 grams cans of canned peas and incubation at 37° C. for about a week, we could reproduce the same flat souring of the canned product as was found in the original cans.

Asparagus-beans: Of the 98 cans of asparagus-beans incubated at different temperatures 36 were unsterile, 23 of the unsterile cans being "soft swells", the rest flat sours. Most of the unsterile cans belonged to the 55° C. and 37° C. series. From the "soft swells" two different groups of organisms were recovered. In the majority of the cans Gram positive rods possessing characteristics quite similar to the members of the Subtilis group were isolated. In most cases these organisms were present in pure culture. Michael and Tanner (13) have shown that these types of bacteria are capable of fermenting canned cream style corn with formation of gas

without causing any notable change of the product. This is in accordance with our findings, as the asparagus-beans exhibited a normal appearance, but had a faint sour, straw-like odour, which in many cases would have escaped detection without a very careful observation. The pH of the brine being usually 5.5 for normal packs of asparagus-beans, had in the unsterile cans a value of 5.0—5.3. In eight cans autosterilization had probably occured, as no viable organisms could be recovered. Direct microscopical examination of the contents of the cans revealed numerous microorganisms. The pH values of the product varied from 4.2—4.8. The odour was distinctly acid, but the appearance of the product was normal.

Inoculation of spore suspensions of the different strains of the Subtilis group was made into sterile cans of asparagus-beans. The cans incubated for two weeks at 37° C. did, however, remain normal.

From the rest of the "soft swells" a mixed flora of organisms was recovered consisting of Gram positive rods belonging to the Subtilis group, and facultative anaerobic acid producing organisms, which cultivated on laboratory media, gave no evidence of gas formation. These must be considered as flat sour organisms. The canned product had a normal appearance, but the odour was faint sour, the pH value being 4.7—5.0.

The rest of the non-sterile cans, 13 in all, were flat sours. Our attempts of isolating the organisms responsible for this spoilage failed. The canned product was not materially changed, the appearance being normal, but the odour was distinctly acid, and the brine had a pH value of about 4.8. It is of interest to note that the flat sours were also represented in the group of cans incubated at 22° C., at which temperature cultures of these organisms were found to develop. This brings out the fact previously found with peas, that the flat sour organisms were not obligate thermophiles.

Another point of interest is the loss of viability of the organisms upon storage at 10° C. All the cans kept at this temperature and subjected to a short incubaton at 37° C. and 55° C. prior to the sterility test, proved to be sterile, and the bacteriological examination of the contents gave no evidence of any bacterial growth, direct smears showing no bacterial cells, and the odour, taste and pH of the canned product being normal. This seems to bring out the fact that underprocessed vegetables may upon long storage at low temperature become sterile.

String beans: This variety of beans was coarser than the asparagus-beans. The pods were cut diagonally in thin slices of equal thickness of about $^1/_{10}$ of an inch before blanching. The packing procedure was the same as used for the other vegetables. Heat penetration measurements, carried out with the different kinds of vegetables used for our experiments, had shown that cut string beans in spite of being more solidly packed, had about the same heat penetration as asparagus-beans. As the chemical composition of string beans did not differ essentially from the asparagus-beans, the pH of the canned product being 5.3—5.5, a similar bacterial flora was to be expected as in asparagus-beans.

Of the 50 cans stored at 55° C. and 37° C., 44 cans were swelled, the majority of the cans being "soft swells", the rest "hard swells". The contents of the soft swelled cans had an acid odour, but were of normal appearance. Gram positive rods were in some cans recovered and proved to be present in pure culture. These organisms belonged to the Subtilis group. In many cans where the acidity was high, the pH being 4.6—4.8, autosterili-

zation had occured, as Gram stains of films made of the canned product, revealed the presence of bacterial cells, which, howover, proved not to be in a viable condition.

In a few cans pure cultures of an acid producing Gram positive organism which was facultative anaerobic, could be isolated. No gas production could, however, be demonstrated when these organisms were cultivated on laboratory media. One of the strains was inoculated in a sterile can of string beans and produced upon storage at 37° C. the same change of the canned product in an acid direction without any gas formation.

The contents of the "hard swells" had a distinctly different odour from that of the "soft swells", reminding somewhat of butyric acid. The pH of the product was 4.5—4.6, the appearance being normal. In these cans autosterilization had occured, as attempts to isolate the spoilage organisms failed. Neither could the spoilage organisms responsible for the butyric acid odour in the cans incubated at 10° C., and in three of the cans kept at 22° C., be recovered.

Mushrooms: For our experimental packs a wild growing mushroom, chanterelle, was used. This variety is much appreciated for its fine flavour and good taste, and is used to a large extent in home canning. This fungus besides the cultivated champignon is in our country used for commercial packing. According to the experience from home canning this product is often spoiled during storage. A study of the spoilage organisms in canned mushrooms was considered to be of interest in this investigation.

The experimental pack, consisting of 20 cans, were incubated at 55° C. and 37° C. At the end of the incubation period four cans belonging to the series incubated at 37° C., were swelled. In three of these cans an anaerobic obligate spore-forming organism, which was identified as Clostridium sporogenes, was isolated. The contents of the cans had a normal appearance, but the odour was stale. This organism was in two cases present in pure culture, in the third case a facultative anaerobic spore-forming, acid producing organism could also be isolated.

An inoculation of Clostridium sporogenes into sterile cans of mushrooms, was done. After a week's incubation at 37° C. the cans were swelled. An examination of the contents revealed the same spoilage. A cultivation of the organism responsible for the stale odour showed that the morphological and cultural characteristics corresponded well with those of the organism used for inoculation.

In the fourth swelled can a Gram positive rod which was facultative anaerobic spore-forming was isolated. This organism belonged to the Subtilis group and resembled the bacteria found in the other vegetables. The contents of this can were not materially changed, the appearance being normal, but the product having an off-odour.

The rest of the cans, 16 in all, belonging to as well the series incubated at 55° C. as the series incubated at 37° C., remained flat, but an examination of the contens revealed that they all contained microorganisms. The product had in all cases a normal appearance and odour, but it had been exposed to the action of acid producing organisms, as the pH of the brine was 4.4—4.6. With two of the cans from the 55° C. series and two from the 37° C. we succeeded in isolating an acid producing Gram positive spore-forming organism, which had cultural and morphological characteristics similar to the flat sour organisms isolated from the other vegetables. These organisms were inocu-

lated in sterile cans of mushrooms and incubated at 37° C. After having been kept for about a week at this temperature, the cans remained flat. The contents were examined and showed a development of microorganisms which could be identified as the same acid producing microorganisms as used for the inoculation.

In the rest of the unsterile flat cans our attempts of recovering the spoilage organisms all failed, but stained films from the contents of the cans showed the presence of Gram positive rods. The loss of viability of these organisms upon storage must probably be attributed to the acid production. The same autosterilization had occurred as found with some of the other vegetables.

Asparagus belongs to the kind of vegetables which is much exposed to bacterial decomposition. As would be expected, asparagus is often contaminated with bacteria and bacterial spores from the soil. Townsend (23) has traced heat resistant thermophilic organisms in asparagus to soil.

Our packing material consisted of seven cans of asparagus which were incubated at 37° C. Four of these cans were after incubation "soft swells", the rest remained normal. In all the soft swells viable organisms were recovered, which were isolated as Gram positive facultative anaerobic spore-forming bacteria belonging to the Subtilis group. These organisms were in three cans present as pure culture, from the fourth can Clostridium sporogenes could also be isolated. The pH of the canned product was 5.0—5.2, the product being almost normal of appearance and odour. In one can the brine was cloudy, and the odour reminded of butyric acid.

Of the rest of the normal cans two were flat sours, from which an acid producing spore-forming organism was isolated, which could not be classified according to Bergey but was related to the Bacillus brevis group. The contents of the flat sour cans were not essentially changed, the appearance of the product being normal, but having an off-odour. The pH value was 4.6—4.7.

Mangold leaves: The sterilization process of mangold leaves used in this investigation as a substitute for spinach, is like the latter rendered difficult on account of the slow rate of heat penetration of these products. The leaves make up a compact mass which arrest convection currents. When the products are closely filled, this difficulty is aggravated.

Heat penetration measurements showed that with the home canning procedure used in this investigation, the processing being 20 minutes' heating at 100° C., the temperature was in the middle of the product at the end of the processing time only 55° C.—60° C. We could consequently expect a mixed bacterial flora in the canned product.

Of the 47 cans examined none was sterile. Different groups of spoilage organisms were recovered from the unsterile cans. In the majority of cases Gram positive facultative anaerobic rods belonging to the Subtilis group were recovered. These microorganisms were represented in all of the four series of cans held at the different temperatures. The cans were in most cases "soft swells", and the contents were normal, the pH being 5.4—5.5.

From four of the cans, incubated at respectively 55° C., 22° C. and 10° C., Clostridium sporogenes was isolated in pure culture. These cans were swells, but the contents were normal except for one can incubated at 22° C., which had a putrid odour. From five other cans, held at 37° C., 22° C. and 10° C., a mixture of Clostridium sporogenes and a

facultative anaerobic organism belonging to the Subtilis group was isolated. All cans were swelled except for the one incubated at 10° C. The appearance of the product was normal, the odour only in two cases stale. Many difficulties were experienced in eliminating the obligate anaerobic organism from facultative aerobic, and successive plating and isolation by deep culture method in Burri tubes were necessary.

From two of the swelled cans incubated at 55° C. a facultative anaerobic acid producing organism was isolated, which in both cases was present in pure culture. Gas production could be demonstrated in Burri tubes with one of these organisms. With reference to the morphological and cultural characteristics these organisms could not be classified according to Bergey. The contents of the cans were not materially changed.

Flat sour organisms were recovered from two cans, incubated at respectively 55° and 10° C. These organisms which resembled the flat sour bacteria isolated from the other varieties of vegetables, were spore-forming, facultative anaerobic. They possessed the power of imparting to the canned product a faint acid, straw-like odour without changing the appearance of the canned vegetable. In some of the cans autosterilization had occurred, as stained films revealed the presence of bacteria; but they proved no longer to be in a viable condition. Also in these cans the contents were normal. These results seem to indicate that canned mangold leaves do not constitute a favourable medium for bacterial growth. Even with strongly underprocessed mangold leaves, as used in this investigation, the spoilage bacteria did not show a marked development. In most of the cans the contents were not materially changed, the appearance and odour of the canned product being normal.

Carrots: The carrots were sliced in about 1/5 inch thickness and packed in brine. Of 56 cans of carrots four cans belonging to the series held at 55° C. and 37° C., proved to contain microorganisms. The contents of these cans were not changed, the appearance and odour of the product being normal in all cases except in one, where a faint butyric acid odour was noticeable. The pH of the brine varied from 4.6—4.9 while the normal value was 5.0—5.2. These flat sour acid producing organisms were not in a viable condition, as all our attempts of recovering these bacteria failed. It is consequently to be presumed that autosterilization had taken place. Gram stains of films from the brine revealed that these organisms differed morphologically from the flat sour organisms isolated in the other vegetables, as they represented long, slender rods, the other being short and thick.

Canned carrots do not seem to be a favourable medium for bacterial development. This may partly be accounted for by the pH of the product, which is normally 5.0—5.2 and consequently the most acid of all vegetables examined.

Edible podded peas and carrots: A mixture of sliced carrots and edible podded peas cut in pieces, the length of the cut being about one inch, was packed in brine. This mixture of vegetables is very much used in home canning. As with carrots this kind of canned vegetables proved to yield almost only sterile cans, merely three of the 28 cans containing microorganisms. One of these cans belonged to the series held at 55° C., the two others to the series held at 37° C. These cans were swelled and contained acid producing bacteria, which were not in a revivable condition. The brine had a distinctly acid reaction, the pH being 4.9. In one of the cans the con-

tents had a stale odour, in the two other cans the odour was normal. In all cases our attempts of isolating these bacteria failed, autosterilization having presumably occurred.

Mangold stalks: Of 71 cans of mangold stalks 68 were sterile. Examination of stained films from the rest of the cans showed bacterial cells, but these organisms could in no case be cultivated. The contents of these cans were normal of appearance and odour. As the pH of canned mangold stalks is 5.2—5.4, this may contribute to make this medium less favourable for bacterial growth.

Cauliflower: The presence of microorganisms could be demonstrated only in three of 36 cans of cauliflower. One of these cans, belonging to the series incubated at 55° C., was "soft swell" and contained Gram positive rods which were not in a viable state. The contents of the can were normal as for the appearance and odour of the product. The pH of the brine was 4.7, that of normal cauliflower being 5.2—5.4.

The two other unsterile cans, belonging to the series kept at respectively 22° C. and 10° C., were flat after the incubation period. The contents of these cans were in both cases normal as well the appearance and odour, as the pH. Stained films of the contents revealed that bacterial cells were present in the product. These organisms could, however, not be cultivated.

Mixed roots: Our experimental packs of mixed roots consisted of parsnip, carrots and celery roots cut in pieces of about 1/2 inch length. Of the 26 cans four, belonging to the series of cans held at the two highest temperatures, contained microorganisms. One of these cans was swelled and contained Gram positive acid producing rods. The odour of the canned product was unnormal, stale, the pH being 4.9. This product was probably autosterilized as the spoilage organisms could not be cultivated. Two of the other unsterile cans contained flat sour organisms, the pH in one can being 4.0 in the other 4.7. The contents of these cans were normal of appearance, but had a decidedly acid odour. In one case the organisms responsible for the change could be cultivated and isolated, the nearest classification according to Bergey being Bacillus brevis. From the fourth can Gram positive rods were observed in the stained films, but could not be revived. The contents of the can were normal as for appearance and odour, the pH being likewise normal i. e. 5.1.

Organisms isolated.

The bacteria isolated from the unsterile cans of vegetables used in this investigation could be divided in different groups according to their morphological and cultural characteristics and their ability to cause spoilage in canned vegetables.

Obligate anaerobic bacteria: Members of this group of organisms were found to be especially prevalent in canned peas, eighteen of our strains of Clostridium sporogenes being isolated from this kind of vegetable. From one can of asparagus, three of mushrooms and nine of mangold leaves strict anaerobes were also recovered, which were identified as Clostridium sporogenes.

This organism exhibiting its highly putrefactive and gas producing qualities especially in protein rich vegetables like peas, is of great importance in the canning of this product, but may also play a rôle as a spoilage organism in canned asparagus and mushrooms. As for canned mangold leaves this

product was found to be less exposed to decomposition by Clostridium sporogenes, which seems to indicate that this vegetable offers a less favourable medium for its growth.

As for the identification of the 31 strains of Clostridium sporogenes, all their characteristic features regarding points of classification corresponded with those given for these anaerobic bacteria in Bergey's manual of determinative bacteriology (3). Some differences between the strains were observed as to their formation of indol, reduction of nitrates and their maltose- and glucose-fermenting power. As all the main characteristics of these strains corresponded with Clostridium sporogenes, we feel justified in identifying them as belonging to this species. The optimum temperature for these organisms was 37° C., but good development of growth was also observed at 55° C. and at 22° C. The thermal resistance of the spores of one of the strains was established according to the method by Bigelow and Esty (4). Suspension of spores in pea juice were heated in sealed tubes in an electrically heated oil bath, equipped with a motor-driven turbine stirrer and automatic temperature control. The heat resistance of this strain was found to be 70 minutes at 110° C., 29 minutes at 115° C. and 10 minutes at 120° C. Baumgartner and Wallace (2) investigating the potential sources of anaerobic infection in connection with food preservation, determined the heat resistance of a highly thermoresistant strain of Clostridium sporogenes, which they found to be 50 minutes at 115° C. and 20 minutes at 120° C.

A characteristic feature for the strains of Clostridium sporogenes isolated from our experimental packs of vegetables is their tendency to grow in symbiosis with facultative aerobic organisms belonging to the Subtilis group. Only about half of our strains isolated from the cans were present in pure culture.

None of the strains were pathogenic. This was tried out on guinea pigs, rats and mice by feeding experiments, and injections intraperitoneally and subcutaneously of samples from the culture, filtered through Chamberland filter tubes prior to the injection. When pure cultures were used for these experiments, no toxic effect was observed, but with brine from canned mangold leaves, a very striking toxic effect was observed with six of the mangold packs. As for the symptoms exhibited they were for three of the cans typical for botulism, for the three other less characteristic for this intoxication. In no case Clostridium botulinum could be recovered from the three cans giving botulism-like symptoms. Clostridium sporogenes was isolated either in pure culture, from two of the cans, or in symbiosis with organisms of the Subtilis group. In two of these cans the contents had a putrid odour, in the third the odour was normal. All the cans belonged to the series held at 22° C. This seems to indicate that in a highly underprocessed product like mangold leaves other bacteria may have had an inhibiting effect on the development of Clostridium botulinum, which had lost its viability upon storage. Canned mangold leaves may also be a less favourable medium for its growth. But the fact that samples from underprocessed mangold leaves in six cases produced toxic symptoms in experimental animals, confirm the opinion advanced by other investigators, namely that home canned foods not adequately sterilized, may be a source of potential danger. Especially Tanner (17, 18, 19) has repeatedly called attention to the great danger of botulism from home canned

food and seriously warned against home canning procedures with processing at boiling water temperature.

Flat sour spoilage organisms. According to results of various investigators (6, 7, 12) flat sour producing organisms seem to be the most important as spoilage agents in the canning of vegetables. Especially starchy vegetables like peas and corn are much exposed to this kind of spoilage. This is confirmed by our experiments, about half of the unsterile cans of peas being flat sours. As for the occurrence of these organisms in the other vegetables, thirteen of the cans of asparagus-beans had been exposed to spoilage by flat sour organisms, twelve cans of string beans, sixteen of mushrooms, twenty-one of mangold leaves and two of mixed roots. As for the identification of the organisms responsible for the flat sour spoilage many difficulties recognized by other investigators (5, 21) were encountered, as in only sixteen cans viable organisms could be demonstrated, autosterilization having occurred in the rest of the cans. The flat sour spoilage organisms were in most kinds of vegetables present in pure culture, but in mangold leaves they were mixed with other organisms, especially with bacteria belonging to the Subtilis group. Most of our strains were facultative thermophiles growing at 55° C. and at 37° C. A few strains could be demonstrated in cans stored at 22° C. and 10° C. after the cans had been incubated for a short time at 55° C. and 37° C. prior to the sterility test.

None of our strains corresponded in all characteristics with any of the flat sour producing organisms described by Bergey (3) nor by Cameron and Esty (6). The main characteristics of our strains were: Gram positive varying to Gram negative rods occurring singly, in a few cases in chains. They were usually short, thick rods, a few strains having thin, slender rods, with cylindrically formed, central spores, showing very little bulging of the rod. Agar colonies: Grayish, smooth. Broth: Turbid with sediment and no surface growth. Litmus milk: Coagulated, acid. Indol: Usually not formed. Nitrates in most cases not reduced. Fermentation reactions: Glucose, sucrose, maltose, lactose were readily fermented with the production of acid. Mannit in most cases not fermented. No evidence of gas formation with all the sugars. A few strains differed from the major group in their action on carbohydrates, being unable to utilize sucrose, maltose and lactose. Relation to oxygen: Facultative anaerobic. The heat resistance of spores was determined with one of the strains isolated from peas, and found to be 16 minutes at 115° C. and 4 minutes at 120° C., thus being more resistant than the strains investigated by McMaster (12) namely 10—14 minutes at 115° C.

Considering the importance of these organisms as spoilage agents in canned vegetables it is according to our findings especially in peas, beans and mushrooms that these organisms are capable of producing the typical flat sour condition. The growth requirements of these microbes may be better fulfilled with these vegetables on account of their chemical composition, the protein contents being higher, and the pH more favourable. For the other varieties of vegetables as carrots, cauliflower etc. these organisms were of no importance.

Besides the above mentioned facultative anaerobic, spore-forming, flat sour, producing organisms another group of non-gas forming acid producing microorganisms was found to be present in four cans of carrots, one of mangold stalks, one of cauliflower and one of mixed roots. These organisms were impossible to cultivate.

They were morphologically different from the other flat sour producing organisms, being very long, slender rods, which had developed in the canned product without producing any notable change. In a few cans a faint acid odour was perceptible, but in most cases this would have escaped detection. The pH of the product was slightly changed in the acid range. B o t h e (5) describes flat sour producing organisms in canned vegetables, which may correspond with this group of bacteria.

The pathogenicity of this group of flat sour producing organisms as well as that of the first mentioned group was tried out on experimental animals, brine from the different kinds of vegetables being used. In no case any toxic effect was observed.

As for the temperature requirements of our strains of flat sours none were obligate thermophiles. C a m e r o n and E s t y (6) considered the obligate thermophiles to be of extreme significance in canned vegetables. M c M a s t e r (12) studying the flat sour spoilage in canned peas, reported that all his strains were facultative thermophiles. B o t h e (5) likewise emphasised that the obligate thermophiles found to be of great importance in America were of almost no significance in his country. This seems to indicate the possible relation between the occurrence of these organisms and the climatic conditions.

A c i d - a n d g a s p r o d u c i n g o r g a n i s m s. These organisms which were especially predominant in string beans, were facultative thermophilic. They produced hard swells after a few days' incubation at 55° C., a somewhat longer time being required for the cans kept at 37° C. The contents of the cans had a typical butyric acid odour but were normal of appearance. The product had a pH value of about 4.5.

These acid- and gas producing organisms which were Gram positive varying to Gram negative slender rods were not in a viable condition. All attempts to induce them to grow on different laboratory media failed.

Their pathogenicity was tried out, brine from the different cans being used for injection and feeding experiments. The result was negative.

S p o r e f o r m i n g a e r o b e s. Owing to the heat resistance of the spores of these organisms members of this group would be expected to be present in underprocessed vegetables. According to our examination spore-forming aerobes were found to be very common in our experimental packs. They possessed characteristics quite similar to members of the B a c i l l u s s u b t i l i s group, and were capable of developing under anaerobic conditions. These organisms were recovered from seven cans of peas, in which they were present in mixed culture with C l o s t r i d i u m s p o r o g e n e s. They were also isolated from twelve cans of asparagus beans and twelve cans of string beans, one can of mushrooms and three of asparagus. In all these cans which were "soft swells", these organisms were present in pure culture. In mangold leaves which was a highly underprocessed product, organisms of the S u b t i l i s group were present in most of the unsterile cans, usually in pure culture, but in several cans in mixed culture with C l o - s t r i d i u m s p o r o g e n e s. As for the temperature requirements of these organisms they were in most cans facultative thermophiles growing at both 37 and 55° C. M i c h a e l and T a n n e r (13) making bacteriological examination of 900 cans of commercially sound corn, reported that 24 per cent of the cans contained viable microorganisms. Of the 256 strains isolated 215 belonged to the S u b t i l i s group. Studies concerning the ability of

these organisms to cause spoilage in canned corn were carried out with 44 organisms. The authors conclude that "if the number of microorganisms present in canned corn were large enough to produce the initial growth necessary, there might be some evidence of spoilage from this source". This is in accordance with our findings as most of the cans containing organisms of the Subtilis group were "soft swells". As none of our cans were vacuum-packed, this may have contributed to the development of this group of bacteria. Upon reinoculation of the strains in sterile mangold leaves we did not succeed in obtaining swelled cans. In most cases no perceptible effect of bacterial growth on the canned vegetables was observed, the appearance and odour of the products being usually normal.

With reference to the morphological and cultural characteristics of our strains they possessed properties similar to the members of the Subtilis group. Most of them were facultative anaerobic. They were capable of growing at 37 and 55° C. but would also develop at lower temperatures. As for the reaction on litmus milk, some of the strains coagulated milk, most of them showed peptonization and reduction. Apart from a few minor points of difference in characteristics they were all rather similar. Pathogenicity was tried out on experimental animals and gave a negative result.

As for the experiments on toxicity of the underprocessed vegetables used in this investigation, twenty-three packs in all were examined, about 180 animals being used.

Conclusions.

Bacteriological examination of 523 cans of vegetables, including 10 varieties, processed with fractional sterilization at 100° C. on two successive days, were carried out to determine the types of organisms significant as spoilage agent in canned vegetables. The sanitary side of the home canning procedure was also investigated by the use of experimental animals. The experiments carried out over a period of three years showed a characteristic flora with only slight variation from one year to another. Data are presented which show that a distinction could be drawn between 1) vegetables easily decomposed by microorganisms like peas, beans, mushrooms, asparagus, and therefore requiring a safe processing under pressure, and 2) vegetables showing commercial sterility when given a fractional sterilization at 100° C. like carrots, roots, cauliflower and mangold stalks.

Bacteriological studies, including for a few strains heat resistance determinations, were done with 121 strains of microorganisms isolated from unsterile cans. The spoilage organisms could be arranged into four main groups: 1) Obligate anaerobes, especially prevalent in peas, but also recovered from mushrooms, asparagus and mangold leaves. 2) Flat sour producing organisms were present in peas, string beans, mushrooms, mangold leaves and mixed roots. These two groups were definitively established as spoilage organisms upon reinoculation in sterile cans of vegetables. Autosterilization was frequently encountered in flat sour cans. 3) Acid- and gas-producing organisms were of significance, especially for string beans. 4) Spore forming aerobes were encountered in different kinds of vegetables and were in some cases capable of producing "soft swells".

The pathogenicity of the strains from the four main groups was tried out, and showed that none of the cultures were poisonous to experimental animals. Toxicity could, however, be demonstrated with six packs of man-

gold leaves, three giving typical symptoms of botulism. The organisms responsible for this toxicity could not be recovered.

The influence of storage at different temperatures upon the keeping quality of the underprocessed products and upon the survival of the organisms was studied, the cans being divided into four groups, and kept at 55°, 37°, 22° and 10° C.

The cans stored at the lowest temperature gave very little evidence of development of spoilage organisms, the keeping quality being good. Loss of viability ot microorganisms could also be demonstrated at this temperature, many cans becoming sterile upon long storage. These last facts bring out important points concerning the storage conditions of canned foods.

References.

1. Barlow, B., A spoilage of canned corn due to a thermophilic bacterium. (Thesis). (University of Illinois 1913.) — 2. Baumgartner, J. B., and Wallace, M. D., A heat-resistant strain of Cl. Sporogenes. (Food Manufacture. Vol. 11. p. 10—12. 1936.) — 3. Bergey, D. H., Bergey's manual of determinative bacteriology. Fifth Edition 1939. (Williams & Wilkins Company, Baltimore.) — 4. Bigelow, W. D., and Esty, J. R., The thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 27. 1920. p. 602—617.) — 5. Bothe, F., Säurungsbakterien in Konserven. (Vorratspflege u. Lebensmittelforsch. Bd. 1. 1938. S. 369—375.) — 6. Cameron, E. J., and Esty, J. R., The examination of spoiled canned foods. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 39. 1926. p. 89—105.) — 7. Cameron, E. J., Williams, C. C., and Thompson, R. J., Bacteriological field studies in canning. Thermophilic contamination in the canning of peas and corn. (National Canners Association, Bulletin No. 25-L. 1928. 56 pp.) — 8. Cheyney, E. W., A study of the microbes found in merchantable canned foods. (Journ. of Med. Res. Vol. 40. 1919. p. 177—197.) — 9. Donk, P. J., A highly resistant thermophilic organism. (Journ. of Bact. Vol. 5. 1920. p. 373—374.) — 10. Esty, J. R., Bacteriological studies. (The Canner, Convention No. 68. No. 10. 1929. p. 191—192.) — 11. Gillespy, T. G., A study of the growth of mixed organisms in canned vegetables. (University of Bristol, The Annual Report. 1935—1936. p. 21—29.) — 12. McMaster, N. B., "Flat-Sour" spoilage in canned peas. (University of Bristol, The Annual Report 1934—1935. p. 58—64.) — 13. Michael, V. M., and Tanner, F. W., Microbiology of merchantable creamstyle canned corn. (Food Research. Vol. 1. 1936. p. 99—112.) — 14. Paine, F. S., Some observations on thermophilic anaerobes. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 85. 1931. S. 122—129.) — 15. Savage, W. G., Hunwicke, R. F., and Calder, R. B., The bacteriology of canned meat and fish. (Food Investigation Board, Special Report No. 11. 1922. 72 pp.) — 16. Sunderlin, G., Nelson, P. M., and Levine, M., Studies in home canning. I. (Iowa State Coll. Journ. of Sci. Vol. 2. 1928. p. 189—212.) — 17. Tanner, F. W., Bacteriological problems in home-canning procedures. (Journ. of Home Econ. Vol. 26. 1934. p. 365—376.) — 18. Tanner, F. W., Home canning and public health. (Amer. Journ. of Publ. Health. Vol. 25. 1935. p. 301—313.) — 19. Tanner, F. W., Proper processes for home canners. (Journ. of the Amer. Diet. Assoc. Vol. 11. 1935. p. 18—27.) — 20. Tanner, F. W., The microbiology of foods. (The Twin City Printing Co., Champaign, Illinois 1932.) — 21. Tanner, F. W., Echelberger, E. E., and Clark, F. M., "Autosterilization" as a problem in the bacteriological examination of canned foods. (Proc. of Soc. f. Exp. Biol. and Med. Vol. 29. 1932. p. 1000—1001.) — 22. Townsend, C. T., Certain acid-tolerant bacteria causing spoilage in canned foods. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 78. 1929. S. 161—172.) — 23. Townsend, C. T., Source of thermophilic bacteria causing spoilage in canned asparagus. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 51. 1932. p. 129—136.) — 24. Weinzirl, J., The bacteriology of canned foods. (Journ. of Med. Res. Vol. 39. 1919. p. 349—413.) — 25. Wyant, Z. N., and Tweed, R. L., "Flat-Sours". Bacteriological study of "Flat-Sours" of cold packed canned peas. (Michigan State, Technical Bulletin 59. 1923. 29 pp.)

Zur Kultur von Trametes auf sterilisiertem Waldhumus.

[Aus dem Pflanzenphysiologischen Laboratorium der Kgl. Tierärztlichen und Landwirtschaftlichen Hochschule, Kopenhagen.]

Von C. Treschow.

Im Verlaufe meiner Untersuchungen über Trametes radiciperda (Fomes annosus [Fr.] Cke.) zeigte es sich, daß es sehr schwierig war, diesen Organismus auf Waldhumus zu kultivieren, wenn nicht der Humus vorher durch Autoklavieren oder Dampfsterilisation sterilisiert worden war. Dies ließ sich entweder dadurch erklären, daß andere Organismen in dem nichtsterilisierten Humus Stoffe bilden, welche das Wachstum von Trametes hemmen (Antagonismus), oder daß gewisse für das Wachstum von Trametes notwendige Nährstoffe erst bei der Sterilisation gebildet oder freigelegt werden.

Um zwischen diesen Möglichkeiten zu entscheiden und um zu konstatieren, ob ein eventueller Antagonismus durch Bakterien oder durch Pilze zustande kommt, wurde im Frühjahr 1939 eine Reihe von Trameteskulturen auf Waldhumus angesetzt. Es sei noch bemerkt, daß andere Fälle von Antagonismus zwischen Pilzen von Porter und Carter zusammengestellt sind.

Für die Versuche wurde ein saurer Waldhumus von p_H 4,2 aus einem ungefähr 70jährigen Fichtenbestand im Ruderwald bei Kopenhagen verwendet. Der Humus wurde 8 Tage lang an der Luft getrocknet und dann in Portionen von je 20 g in 300-ccm-Erlenmeyerkolben verteilt. Die Kolben wurden darauf mit je 75 ccm Wasser versetzt und mit Watte verschlossen.

Folgende Serien mit je 4 Kolben wurden angesetzt:

1. Autoklaviert: Die Kolben wurden 20 Min. bei 1 Atü autoklaviert. Wie früher gefunden (Treschow 1938), verändert sich die Wasserstoffionenkonzentration des Waldhumus nicht beim Autoklavieren.

2. Autoklaviert + ursprünglicher Waldhumus: Nach Behandlung im Autoklaven wie unter 1, wurde 1 ccm aufgeschlemmter, natürlicher, nichtsterilisierter Waldhumus (10 g Humus in 100 ccm Wasser) zugesetzt.

3. Autoklaviert + ursprünglicher Waldhumus, nachher pasteurisiert: Die Kolben wurden wie unter 2 behandelt, aber nach Impfung in ein Wasserbad von 80° C gestellt, bis das Thermometer im Kolben 10 Min. lang 80° gezeigt hat.

4. Autoklaviert + Reinkultur von Trichoderma sp. Nach Sterilisation wie unter 1 wurde mit 1 ccm einer Sporenaufschwemmung von Trichoderma sp. geimpft.

5. Autoklaviert + Reinkultur von Bacillus subtilis. Wie 4, aber mit 1 ccm einer Aufschwemmung einer Reinkultur von Bac. subtilis geimpft.

6. Autoklaviert + Reinkultur von Actinomyces sp. Wie 4, aber mit 1 ccm einer Aufschwemmung einer Reinkultur von Actinomyces geimpft.

7. Pasteurisiert. Die Kolben wurden in ein Wasserbad von 80° gestellt, bis das Thermometer im Kolben 10 Min. lang 80° gezeigt hat.

8. Unbehandelt.

9. Kaltsterilisiert. Die Kolben wurden in einem Vakuumexsikkator nach der Vorschrift von Schweitzer (S. 16 ff.) sterilisiert. Zur Sauerstoff-Absorption wurde Pyrogallol in KOH und als Sterilisationsmittel 40% Formalin, 2 ccm pro 1000 ccm Luft verwendet, Einwirkungsdauer 2 Std.

Darauf wurden sämtliche Kolben mit 1 ccm einer Aufschwemmung von Konidiensporen von Trametes radiciperda (Reinkultur auf Malzextrakt-Agar) geimpft. Die Kolben wurden dann in einen Schrank bei Zimmertemperatur gestellt. Die Observation der Kolben wurde erst nach 2 Jahren abgeschlossen. Während dieser Zeit hätte Trametes die Möglichkeit gehabt, sich zu entwickeln, auch wenn er anfangs in der Entwicklung durch Mikroorganismen gehemmt worden wäre.

Die Versuche gaben das folgende Resultat:

Serie 1. Alle 4 Kolben waren von Trametes stark durchwachsen.
„ 2. Kein Wachstum von Trametes, starkes Wachstum anderer Pilze.
„ 3. In drei von den Kolben wuchs Trametes gut, in einem Kolben Infektion durch Penicillium und kein Wachstum von Trametes.
„ 4. Kein Wachstum von Trametes. Starkes Wachstum von Trichoderma.
„ 5. Starkes Wachstum von Trametes, wie in Serie 1.
„ 6. Starkes Wachstum von Trametes, wie in Serie 1.
„ 7. Starkes Wachstum von Trametes in 3 Kolben, 1 Kolben durch Schimmelpilze infiziert und kein Wachstum von Trametes.
„ 8. Kein Wachstum von Trametes.
„ 9. Kein Wachstum von Trametes, alle Kolben durch fremde Pilze infiziert. Die Kaltsterilisation ist somit nicht gegen die im Humus anwesenden Pilzsporen wirksam gewesen.

Die Versuchsresultate zeigen, daß das Wachstum von Trametes in autoklaviertem und pasteurisiertem Waldhumus gut ist. Sobald fremde Pilze entweder durch Impfung mit unsterilisiertem Waldhumus oder durch Impfung mit Reinkulturen oder durch zufällige Infektion im Substrat zugegen sind, kommt Trametes nicht zur Entwicklung. Dagegen wird Trametes nicht durch die gleichzeitige Entwicklung von Bakterien oder Aktinomyzeten gehemmt. Dies ist aus den Serien 5 und 6 zu sehen und ist außerdem aus dem Wachstum in Serie 3 und 7 zu schließen, da die sporenbildenden Bakterien beim Pasteurisieren nicht getötet werden.

Somit deutet alles darauf hin, daß die Wachstumshemmung von Trametes auf unsterilisiertem Humussubstrat durch andere Pilze verursacht wird. Dies geschieht entweder dadurch, daß die anderen Pilze für Trametes giftige Stoffe ausscheiden, die beim Erwärmen destruiert werden oder verdampfen oder dadurch, daß schnellwachsende Pilze, insbesondere Schimmelpilze, die lebensnotwendigen Stoffe beschlagnahmen und damit das Wachstum von Trametes verhindern. Wäre das letztere der Fall, so wäre zu erwarten, daß Trametes in Serie 2, wo im Verhältnis zu Trametessporen nur wenige Fremdsporen zugefügt wurden, ein jedenfalls geringes Wachstum zeigen müßte.

Die gefundenen Wachstumsbedingungen deuten darauf hin, daß das Myzel von Trametes nur wenig in natürlichem Waldhumus verbreitet ist, im allgemeinen aber in lebendem und totem Fichtenholz und in Fichtenwurzeln lebt. Holz ist ein ganz anderes Substrat als Humus, in Holz vermögen nur wenige Pilze zu wachsen — insbesondere nicht die schnellwüchsigen Schimmelpilze — und damit sind die Möglichkeiten für Konkurrenz und Antagonismus nicht groß.

Fries hat gezeigt, daß das Wachstum von Trametes stark von der Gegenwart von Vitamin B_1 (Aneurin) abhängig ist und daß Vitamin B_1 von verschiedenen zelluloseabbauenden Bakterien, die in totem Holz leben, gebildet wird. Es ist somit möglich, daß eine Trametes-Infektion erst dann stattfindet, wenn Bakterien das tote Fichtenholz oder die Fichtenwurzeln angegriffen und damit eine Einfallspforte für einen späteren Trametesangriff gebildet haben.

Zusammenfassung.

Trametes radiciperda (Fomes annosus) vermag nicht auf saurem Waldhumus zu wachsen. Der Pilz zeigt dagegen gutes Wachstum, wenn der Humus vor der Impfung pasteurisiert oder sterilisiert worden ist. Die Hemmung des Wachstums auf natürlichem Waldhumus ist darin zu suchen, daß Trametes nicht mit anderen Pilzen konkurrenzfähig ist.

Literatur.

Fries, N., Über die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. (Symbol. Bot. Upsaliensis. III, 2. 1938.) — Porter, C., and Carter, J., Competition among fungi. (Bot. Rev. Vol. 4. 1938. p. 165.) — Schweitzer, G., Einführung in die Kaltsterilisationsmethode. 1937. — Treschow, C., Untersuchungen über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum von Polyporus annosus. (Det forstl. Forsögsväs. i Danmark. Bd. 15. 1938. S. 17.)

Referate.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Knöll, H., Untersuchungen über das rhythmische Schwärmen des Bacterium vulgare (proteus). (Kolloid-Ztschr. Bd. 89. 1939. S. 135—144.)

Während man bisher das Schwärmen des Bact. vulgare in seinen verschiedenen Formen für eine zielbewußte Reaktion hielt, konnten die drei Bewuchsmöglichkeiten der Proteus - Bakterien (lokal auf die Impfstelle beschränktes Wachstum, gleichmäßig rasenbildendes und rhythmisches Schwärmen) in vorliegenden Versuchen allein durch Variieren der Oberflächenfeuchtigkeit der Agarplatten gewonnen werden. Hohe Feuchtigkeit hat rasenbildendes Schwärmen zur Folge, abnehmende Feuchtigkeit Ringbildung, und auf trockenen Platten beschränkt sich das Bakterienwachstum auf die Impfstelle. Hunger und Übervölkerung werden deshalb als Ursache für das Ausschwärmen und die Ringbildung abgelehnt. Diese Ablehnung gründet sich weiter auf die Feststellung, daß in Plattenserien mit abnehmendem Nährstoffgehalt die Ringbreiten kontinuierlich kleiner wurden und im Bereich eines Bakterienringes weitergehende Vermehrung nachweisbar war, auch wenn von einem solchen Ring bereits eine neue Schwärmzone ausgegangen war.

Das rhythmische Schwärmen wird mit einem Gestaltwandel zwischen Kurzstäbchen und Schwärmfäden erklärt. Und dieser Gestaltwandel wird (analog dem Liesegangschen Phänomen) darauf zurückgeführt, daß die Wachstumstendenzen (Fadenbildung) in dem kolloidalen Milieu des Agarnährbodens unter dem Einfluß der entstehenden Stoffwechselprodukte — also infolge des „Alterns" der Fäden — durch die Teilungstendenz (Kurzstäbchenbildung) abgelöst wird. Für eine endogen bedingte Lebensperiodik (nach Ruß-Münzer) ergab sich kein Anhalt.

Rodenkirchen (Dresden).

Babudierei, B., Studium eines veilchenblaues Pigment bildenden Mycobacteriums. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1941. S. 377—382.)

Farbstoffbildungsvermögen ist eine unter den Mycobakterien zwar nicht selten vertretene Eigenschaft, doch sind bisher nur hellgelbe bis dunkelrote Farbstoffe beobachtet worden. Erstmals konnte die Bildung eines grauveilchenblauen Pigmentes bei einem aus einem Wasserleitungsrohr isolierten apathogenen säurefesten Keim festgestellt werden, und zwar unter der Wirkung von Lichtstrahlen des violetten bzw. ultravioletten Teiles des Sonnenlichtspektrums. Im Dunkeln und bei Einwirkung von Sonnenlicht blieb die Pigmentbildung aus. Sonnenlicht hemmte offenbar die Entwicklung zu stark.

Rodenkirchen (Dresden).

Saruchanowa, F. G., „Stabile" Rassen der flüssigen Kulturen von Bact. casei. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 718—728.) [Russisch.]

Die auf gewöhnlichem Wege isolierten Stämme von Bact. casei behalten ihre Aktivität bei Temperaturen von 20—25° ca. 20—25 Tage, bei Temperaturen von 35—40° nur 10 Tage. Auf dem Wege der biologischen Auslese der Rassen wurden langlebige Kulturen von Bact. casei isoliert, die bei ziemlich hoher Temperatur und bei verschiedenem Säuregrad ihre Aktivität mindestens 60—90 Tage lang beibehalten. Als bestes Nährsubstrat zu ihrer Entwicklung erwies sich Mager- oder Vollmilch; bei der Lagerung bei hohen Temperaturen erwies sich am besten die Kombination von Bact. casei + Mycoderma casei. Die Anwendung von Kreide erscheint als unzweckmäßig, da diese die Geschmackseigenschaften ungünstig beeinflußt. Der mit den isolierten langlebigen Rassen von Bact. casei hergestellte Schweizerkäse zeichnete sich durch gute Qualität aus.

M. Gordienko (Berlin).

Wiken, T., Untersuchungen über Methangärung und die dabei wirksamen Bakterien. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 312—317.)

Es wurden Untersuchungen über die Methangärung verschiedener aliphatischer Verbindungen und die dabei auftretenden Bakterien angestellt. Bei der Überimpfung erwies sich als wesentlich die Übertragung sehr kleiner Sedimentmengen auf Nährböden mit maximalen Mengen des organischen Materials und reichlichem Bodensatz von Siliciumdioyxd, Kalziumkarbonat oder feinfaserigem Asbest, wodurch weitgehende Konstanz der morphologischen und physiologischen Eigenschaften der Kultur erreicht wurde.

Folgende Haupttypen konnten unterschieden werden: Auf Propylalkohol und Formiat lange, unbewegliche, wohl mit Methanobacterium Omelianskii identische Stäbchen (von Barker beschrieben). Auf Azetat, Propionat und Butyrat eine unbewegliche Sarzina, die bei Azetat und Butyrat wohl mit Methanosarcina methanica (Smit) Kluyver et van Niel identisch ist, bei Propionat etwas abweicht. Auf Butyrat und Azeton ein, bei Butyrat wohl mit Methanococcus Mazei Barker identischer Kokkus. Auf Azetat, Butyrat und Azeton eine an Methanobacterium Söhngenii Barker erinnernde Form. Dazu auf Azeton linsenförmige Zellen, die noch nicht als Methanbakterien erkannt werden konnten.

Die Angabe von Söhngen, daß für jede Fettsäure eine charakteristische Zusammensetzung der Gasphase gefunden werde, konnte Verf. nicht bestätigen: Das Verhältnis Kohlendioxyd : Methan wechselt und zeigt offensichtliche Neigung zur Periodizität. *Rippel (Göttingen).*

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und Viren.

Visser, H., Thomasphosphatdüngung und Kartoffelschorf. (Die Phosphorsäure. Bd. 10. 1941. S. 31—51.)

Versuche mit Thomasphosphat haben eindeutig gezeigt, daß Beziehungen zwischen der basischen Wirkung von Düngemitteln und dem Auftreten von Kartoffelschorf bei weitem nicht so eindeutig sind, wie vielfach angenommen wird. Auf Böden, auf denen Schorf besonders stark auftrat, riefen sogar abnorm hohe Gaben bis zu 500 dz/ha Thomasphosphat in normalen Jahren bei zum Teil sehr schorfanfälligen Sorten keinen Schorf hervor; selbst in ganz trockenen Jahren wurde der Schorfbefall nur unwesentlich verschlimmert. Die Eigenart des Bodens und die Jahreswitterung üben eine bei weitem größere Wirkung auf das Auftreten von Schorf aus als die Düngung. Es ist deshalb nicht zu erwarten, daß Schorf auf Schlägen, auf denen er erfahrungsgemäß beim Anbau empfindlicher Sorten immer auftritt, bei saurer Düngung mit einiger Sicherheit unterbleibt. Bei fortwährend saurer Düngung ist vielmehr mit Ertragsminderung bei Kartoffeln und insbesondere bei den anderen im Wechsel mit Kartoffeln angebauten Früchten zu rechnen.

Rodenkirchen (Dresden).

Noll, W., Über weitere Befallsymptome und Maßnahmen zur Verhütung von Schäden durch Ascochyta pinodella Jones, A. pisi Lib. und Mycosphaerella pinodes (Berk. et Blox.) Stone bei Erbsen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 50. 1940. S. 49—71.)

Auf Grund der Befallsymptome an Erbsenhülsen läßt sich der Erreger leicht ermitteln, was nach dem Krankheitsbild an Samen nicht einwandfrei möglich ist. Die Keimfähigkeit auch der schwach befallenen Samen ist stark herabgesetzt. Dabei wirken am meisten schädigend Ascochyta pinodella und Mycosphaerella pinodes, schwächer dagegen A. pisi. Stark befallene Samen laufen meist gar nicht auf oder die jungen Sämlinge gehen bald unter Fußkrankheitserscheinungen ein.

Verf. untersuchte die Wirkung von Beizmitteln auf die Verminderung des Befalles. Es wurde nachgewiesen, daß sich durch Beizung nur eine geringe Steigerung der Auflaufzahlen erreichen läßt. Im Mittel keimten bei gebeiztem Saatgut nur 14,5% mehr als bei unbehandeltem. Aber die heranwachsenden Pflanzen wurden nicht mehr fußkrank und der Ertrag war höher als auf den ungebeizten Parzellen. Von den Beizmitteln wirkten die Trockenbeizmittel Abavit-Neu, Fusariol und Ceresan besser als Naßbeizmittel.

Die Versuche zur Auffindung widerstandsfähiger Erbsensorten waren ergebnislos. Alle Speiseerbsen (Pisum sativum) wurden befallen, es bestanden nur Unterschiede im Grade der Schädigung. Felderbsen (P. arvense) waren durchschnittlich widerstandsfähiger als die vorigen.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Mittmann-Maier, G., Untersuchungen über die Moniliaresistenz von Sauerkirschen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 50. 1940. S. 84—95.)

Zur Prüfung der Anfälligkeit von Sauerkirschen wurden künstliche Infektionen an Blüten, Zweigen und Früchten mit Konidien verschiedener Stämme von Monilia cinerea und M. fructigena durchgeführt. Dabei konnten nach Zweig- oder Blüteninfektionen mit beiden Arten an Sauerkirschen Zweig- und Blütendürre hervorgerufen werden. Allerdings war die Virulenz von M. cinerea stärker als die von M. fructigena.

Nach Zweiginfektionen mit der ersten Art starben 54—61% der infizierten Zweige ab und 10—12% zeigten nur Gummifluß, bei Verwendung der zweiten Art starben nur 26—35% ab und 25—34% hatten Gummifluß. Verf.n konnte nachweisen, daß als Folge einer schwachen Infektion, also bei geringer Virulenz des Pilzes oder hoher Widerstandsfähigkeit der Kirschensorte, ein starker Gummifluß auftritt. Die Sortenprüfungen ergaben, daß die Süßsauerkirschen „Harlemer" und „Kaiserin Eugenie" und die Sauerkirsche „Großer Gobet" am widerstandsfähigsten waren. Resistente Sorten wurden nicht gefunden.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Hadorn, Ch., Der Schorf und seine Bekämpfung. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Bd. 50. 1941. S. 214—230.)

Obwohl über den Schorf der Obstbäume und seine Bekämpfung schon eine große Literatur existiert, zeigt seine Bekämpfung doch noch allerhand Unsicherheitsfaktoren, die durch gemeinsame Versuche mit der Praxis zu klären versucht werden. Als Ergebnis ließ sich feststellen, daß Schwefelkalkbrühe von 22° Bé einer mit 32° Bé etwas überlegen ist, ebenso solche mit Kupferzusätzen, besonders mit Kupferoxychlorid 32%. Verbrennungen, welche durch Mischbrühen von Schwefelkalkbrühe + Bleiarsenat verursacht werden, sind auf das Konto des Bleiarsenats allein zu buchen. Der Spritzbelag ist besonders auffällig bei Schwefelkalk-Eisenvitriolbrühe. Die Schorfbekämpfung muß sich um die Blütezeit konzentrieren. Die Sommersporen spielen für die Ausbreitung der Schorfkrankheit von Baum zu Baum eine geringe Rolle. Wenn also der Frühschorf bekämpft wird, gibt es keinen Spätschorf. Die Vorblütenbespritzungen sind demnach durchweg die wichtigsten. Da man heute gezwungen ist, an Kupfer zu sparen, empfiehlt Verf. nur eine Vorblütenbespritzung mit einer Mischbrühe aus 3% Schwefelkalkbrühe + 0,2% Kupferoxychlorid (32%). Für die Kelchbespritzung wird empfohlen eine 2proz. Schwefelkalkbrühe und als Zusatzmittel entweder 0,1% Eisenvitriol oder 0,15% Kupferoxychlorid (32%). Die drei Mittel Schwefelkalkbrühe 22° Bé, Kupferoxychlorid 32% und Eisenvitriol genügen heute vollkommen für eine wirksame und rationelle Schorfbekämpfung.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Zäch, C., Ergebnis der chemischen Untersuchung im Zusammenhang mit den Schorfbekämpfungsversuchen 1940. (Schweiz. Ztschr. Obst- u. Weinbau. Bd. 50. 1941. S. 231—236.)

Die chemische Untersuchung der zu Schorfbekämpfungsversuchen in der Schweiz verwendeten Schwefelkalkbrühen ergab zwei Gruppen von Brühen, einfache und doppelkonzentrierte. Der Gehalt an wirksamen Stoffen (Polysulfiden) ist aber bei der zweiten Gruppe nicht doppelt so groß wie bei der ersten. Die Brühen sind auch unter sich im Gehalt an wirksamen Stoffen stark verschieden. Die Einführung eines einheitlichen Typs ist danach erwünscht. Im zweiten Teil der Arbeit wird über den Arsengehalt der bespritzten Blätter und Früchte berichtet. Allgemein ist der As-Gehalt der Früchte kleiner als der der Blätter. Er schwankte bei 1 kg Frischobst, mit besonders deutlichen Spritzflecken, zwischen 0,5—1,2 mg. Die As-Mengen sind danach nicht so groß, daß gesundheitliche Schäden zu befürchten wären. Die größte gefundene Arsenmenge auf einer Landsberger Reinette betrug 1,7 mg As/kg. Da die Früchte durch die Bespritzung mit Bleiarsenat auch geringe Mengen Blei enthielten, empfiehlt es sich, auf alle Fälle sie vor dem Genuß zu reinigen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Tierische Schädlinge.

Hennig, W., Werden alle „Möhrenfliegenschäden“ durch Chamaepsila rosae F. verursacht? (Arb. physiol. u. angew. Entomol. a. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 36—38.)

Die in der angewandt-entomologischen Literatur als Psila rosae bezeichnete Möhrenfliege muß in die Gattung Chamaepsila gestellt werden. Mit ihr können leicht auch andere zur gleichen Artengruppe gehörende Fliegen verwechselt werden, die z. T. dieselben Nährpflanzen haben. Verf. bringt zur Unterscheidung eine Tabelle, nach der sich auf Grund der Beborstung und des Hypopygiums Ch. rosae von den ihr ähnlichen Arten sicher trennen läßt. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Mühle, E., Die Umbraeule Pyrrhia umbra Hufn., ein neuer Großschädling auf Serradellaschlägen. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 34—35.)

Die Raupen der Umbraeule traten im vergangenen Sommer in den Serradellabeständen Ostdeutschlands sehr stark auf. Größere Flächen wurden kahlgefressen, andere mußten wegen starken Befalls zu Heu gemacht werden. Auch die in den Beständen vorhandenen Unkräuter, wie Knöterich, Rubus-Arten und Galeopsis wurden befressen. Die Raupen zeigten eine große Wanderlust. Sie wurden zeitweilig in beträchtlicher Anzahl in Getreidefeldern gefunden. Mitte August war der Schadfraß in der Hauptsache beendet. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge

Wiesmann, R., Der Wert der Fanggürtel im Kampf gegen den Heu- und Sauerwurm. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Bd. 50. 1941. S. 158—163.)

Jancke hat 1938, nach Vorversuchen in der Pfalz, einen Kampf gegen den Sauerwurm mit Wellkartonfanggürteln empfohlen. Durch diese Methode sollen nahezu alle Winterpuppen des Sauerwurms, im Durchschnitt 94—95%, gefangen werden können, so daß die Heuwurmbekämpfung im folgenden Jahr mit chemischen Mitteln wesentlich erleichtert und wirksamer gestaltet werden kann. Nachuntersuchungen in Wädenswil ergaben aber gegen den einbindigen Traubenwickler nach dem Verf. so geringe Ergebnisse, daß er sich für die Schweiz von dieser Bekämpfungsmethode nicht viel verspricht. In 462 Fanggürteln fand sich nur in 13 Gürteln je eine Puppe der Sauerwurmgeneration. Ob die Ergebnisse gegen den Sauerwurm des bekreuzten Traubenwicklers günstiger sind, bleibt Nachuntersuchungen vorbehalten. *K. Müller (Freiburg i. Br.).*

Abgeschlossen am 2. September 1941.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 11|13.
Ausgegeben am 25. November 1941.

Nachdruck verboten.

Elektrometrische p_H-Messung von flüssigen Mikrobenkulturen.

[Aus dem Institut für landwirtschaftliche Technologie der Technischen Hochschule Graz.]

Von **Franz Fuhrmann.**

Mit 10 Abbildungen im Text.

Mikrobielle Untersuchungen erfordern häufig genaue Messungen des p_H-Wertes im Verlaufe der Zucht in flüssigen Nährsubstraten, wozu in erster Linie elektrometrische Methoden dienen. Da die Bestimmungen meist mit kleinen Flüssigkeitsmengen auszuführen sind, die möglichst einen Kubikzentimeter nicht übersteigen, eignen sich dazu in erster Linie Einrichtungen mit entsprechend kleinem Meßgefäß, das überdies leicht und zuverlässig zu reinigen und zu desinfizieren ist. Dies gilt insbesondere beim Arbeiten mit pathogenem Material.

Im Laufe vieljähriger Durchführung solcher Untersuchungen wurde eine Apparatur für elektrometrische p_H-Messung gestaltet, die diesen Forderungen weitgehendst nachkommt und für das Arbeiten mit der Platin-Wasserstoff- oder Chinhydron-Elektrode in Verbindung mit der gesättigten Kalomelbezugselektrode bestimmt ist. Erstere läßt sich zwar unter Beigabe einer Chinhydronelektrode für beide Meßarten gebrauchen, doch erlaubt die Verwendung gesonderter Einrichtungen ein rascheres und bequemeres Arbeiten mit Chinhydron, dessen Meßbereich ohnehin für die meisten Fälle ausreicht. Die Messung selbst wird mit guten Präzisionspotentiometern vorgenommen, wie sie in verschiedenen sehr guten Ausführungen bei äußerst einfacher Handhabung im Handel erhältlich sind.

Beide Meßketten enthalten die Meßflüssigkeit (flüssige Kulturen usw.) in kleinen Näpfchen in Tropfenform im geschlossenen Raum. Die Tropfengröße kann dabei beliebig bis zu einem Tropfeninhalt von etwa 0,8 ccm gewählt werden. Die Elektroden sitzen in Normalschliffen, wodurch ihre Lage im Tropfen stets gleich festgelegt ist. Da die aufgebrachten Tropfen innerhalb weniger als einer Minute die Temperatur der Apparatur, bzw. der KCl-Verbindungslösung annehmen, genügt es, sie dort für die Korrektur des Meßergebnisses zu bestimmen.

1. Einrichtung für die Verwendung der Platin-Wasserstoffkette.

Sie ist in Abb. 1 in Drittelnaturgröße schematisiert im Schnitt wiedergegeben und besteht aus einem mit den entsprechenden Normalschliffen versehenen Glasballon Mr als geschlossenen Meßraum, an den im Schliff drehbar das Gefäß Tr mit dem Meßteller als Tropfenträger eingesetzt ist. Der Glasballon trägt eingeschliffen die Platin-Wasserstoffelektrode HE, das Was-

serstoffzuleitungsrohr H und den Tubus T zur Einführung des Agar-KCl-Hebers A, der in der Gummihülse G gleitet.

Die Elektrode HE ist an der Einschmelzstelle etwas geknickt und am Ende mit einem Knopf zur Oberflächenvergrößerung versehen. Im Schliff verdreht, ragt sie dadurch während der Wasserstoffdurchströmung nicht in den Tropfen und wird erst durch weitere Drehung im Schliff nach der Wasserstoffsättigung in diesen eingetaucht. Vor dem Gebrauch wird sie elektrolytisch, wie später beschrieben, platiniert und mit Wasserstoff vorgesättigt, in welchem Zustand sie in destilliertem Wasser aufbewahrt wird.

Das Wasserstoffzuleitungsrohr H ist zur Regelung des H-Durchflusses mit einem Glashahn versehen und endet oberhalb des Tropfenträgers, ohne in den aufgebrachten Meßtropfen tauchen zu können, mit einer feinen Ausströmspitze.

Der Agarheber A dient als Elektrolyt-Stromschlüssel und ist in seinen beiden Schenkeln und im Verbindungsteil mit KCl-Agar gefüllt, der aus einer Lösung ausgefaulten Agars in konzentrierter KCl-Lösung wie folgt bereitet wird:

Käuflicher Fadenagar wird in etwa 2 cm lange Stücke zerschnitten, in größerer Menge in einem bei Zimmertemperatur gehaltenen, nur mit Watte verschlossenen Glasgefäß mit Leitungswasser bedeckt, etwa 10—14 Tage hindurch faulen gelassen. Dabei werden mikrobiell alle Eiweißstoffe und einfachen Kohlenhydrate zu leichtlöslichen und gasförmigen Körpern abgebaut, während als reinweiße Masse die Gelose, also der wertvolle erstarrungsfähige Bestandteil unangegriffen bleibt. Nunmehr wird die Masse mit fließendem Leitungswasser durch 48 Std. hindurch ausgewaschen und schließlich 6mal mit stündlich gewechseltem destillierten Wasser fertig gereinigt. Im Faust-Heimschen Trockenapparat wird der reine Agar in dünner Schicht rasch mit Warmluft getrocknet.

3 g des trockenen Agars werden im Dampftopf in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst und 10 g kristallisiertes reinstes KCl zugefügt. Das Hebergefäß wird auf ca. 40° C vorgewärmt und die heiße Lösung durch Aufsaugen in die gleichzeitig eintauchenden Schenkel eingefüllt, wobei die Füllung den punktierten Teilen des Hebergefäßes A der Abb. 1 entsprechen soll. Nach dem Erstarren des Agars wird bis zur halben Kugel bei 40° C gesättigte KCl-Lösung warm aufgefüllt und mit einer Gummikappe verschlossen. Die beiden freien Enden des gefüllten Agarhebers müssen bei der gebrauchsfähigen Aufbewahrung stets in gesättigte KCl-Lösung tauchen, weshalb dafür besondere Gefäßchen vorgesehen sind, die im Gebrauch mit dem Agarheber in Abb. 2 dargestellt sind. Ein kleiner massiver Eisenfuß trägt die beiden Hülsen H, auf deren Grund Korkplättchen liegen. Auf beide Schenkel des Hebers sind die passend gebohrten Korkstopfen K geschoben, die den Heber mit den Enden in die gesättigte und mit einem geringen KCl-Kristallüberschuß versehene Lösung eintauchend im Röhrchenhals festhalten und die Lösung vor Verdampfung schützen. Nach Einsetzen der Agarheberschenkel in die Röhrchen werden der Röhrchenrand und die herausragenden Korkteile mit Vaseline sehr reichlich eingefettet, um jedes Überkriechen der gesättigten KCl-Lösung zu verhindern. Die Fettung ist in der Abbildung punktiert angedeutet. Korkstopfen sind in diesem Falle deshalb vorzuziehen, weil sie die Vaseline reichlich in die Poren einsaugen und dadurch die Fettung dauernd im Gebrauch behalten. Sie werden beim Gebrauche des Agarhebers einfach zur Rohrbiegung hinaufgeschoben und verbleiben dort während der Messung. Die zweite, in der Abbildung leere Hülse

dient zur Aufnahme des abgezogenen Röhrchens während der Benutzung des Hebers.

Der Tropfenträger (Tr der Abb. 1) besteht aus dem an den Glasballon durch Normalschliff angefügten Gefäß, dessen unterer abgeschlossener Teil bis etwa zur Hälfte mit Wasser gefüllt ist, in das das Trägerrohr des eigentlichen Meßtropfen-Tellers hineinragt. Der untere Tellerrand besitzt eine Öffnung (Ö 1), während die Schliffe des Tropfenträgers und des Glasballons eine korrespondierende Bohrung (Ö 2) haben, die beim Drehen des Tropfenträgerschliffes verschlossen wird. Wenn nun durch das Wasserstoffzuleitungsrohr (H) Gas eingeleitet wird, füllt es den Ballon und gelangt

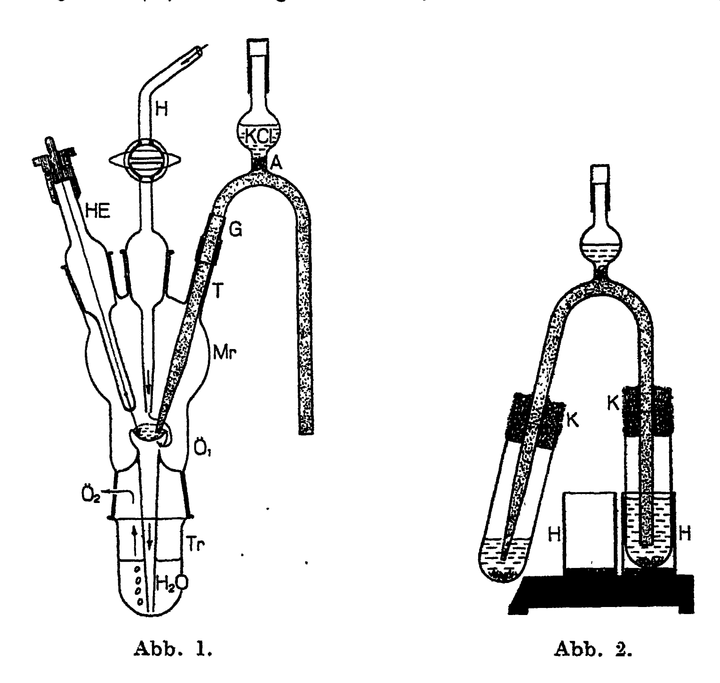


Abb. 1. Abb. 2.

durch die Öffnung Ö 1 in das Meßtellerrohr, perlt durch die Sperrflüssigkeit (H_2O) und kommt schließlich bei der in der Abb. 1 skizzierten Schliffstellung durch die Öffnungen Ö 2 ins Freie. So erfüllt der Tropfenträger gleichzeitig die Funktion des Blasenzählers für die Regelung des Wasserstoffstromes in der Apparatur.

An Nebeneinrichtungen sind noch notwendig: Das Platinier- und Wasserstoffbeladungsgerät für die Elektrode, das gleichzeitig auch als Amalgamierungseinrichtung für die Elektrode des Kalomelhalbelements dient, das Aufbewahrungsgefäß für die wasserstoffbeladene gebrauchsfertige Elektrode und eine Gleichstromquelle von 2—6 Volt Spannung, welche am einfachsten durch einen Trockengleichrichter gegeben ist, der auch für die elektrolytische Wasserstofferzeugung zu dienen hat.

Das kombinierte Platiniergerät (Abb. 3) besteht aus einem isolierenden Grundbrett mit der Stromführungsschiene, die durch einen Stecker mit dem + - Pol der Gleichstromquelle verbunden wird. Die Schiene trägt

leitend verbunden drei federnde Hülsen für die in Metallhülsen gefaßten Elektrolysierröhrchen mit eingeschmolzenen und mit der Fassung verlöteten Platinelektroden. Die 5—6 ccm fassenden Gefäßchen tragen aufgeschliffene Kappenverschlüsse und werden stets für den gleichen Zweck mit der gleichen Füllung verwendet, weshalb sie aufgebrannt die Bezeichnungen Pt, H_2SO_4 und Hg führen. Die Platinierungslösung (2% Platinchlorid in H_2O mit einer Spur von Bleiazetat) kann dauernd im Pt-Gefäß im Finstern aufgestellt verbleiben, ebenso die 1proz. H_2SO_4-Lösung. Der gefettete Kappenverschluß verhindert jede Verunreinigung und Verdunstung. Diese Hilfsapparatur besitzt noch ein drittes Elektrolysegefäß, das bei der Herstellung des Kalomel-Halbelements zur Amalgamierung der Elektrode dient.

Hinsichtlich der Methodik der Platinierung, der Beladung der Platinwasserstoffelektrode mit Wasserstoff, der Erzeugung des reinen Wasserstoffes für die Sättigung der Meßflüssigkeit und bezüglich der Meßtechnik

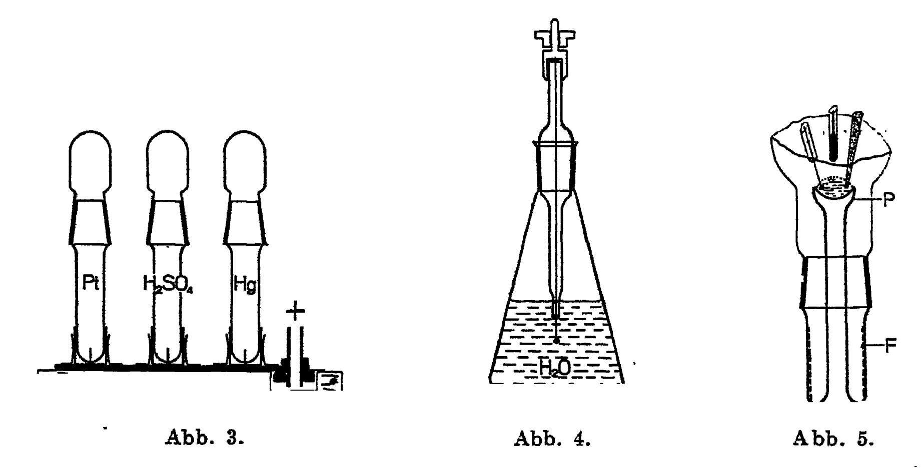


Abb. 3. Abb. 4. Abb. 5.

überhaupt sei auf die „Elektrometrische p_H-Messung" des Verf.s[1]) verwiesen. Das Aufbewahrungsgefäß für gebrauchsfertige, mit Wasserstoff beladene Elektroden bildet ein kleiner Erlenmeyerkolben, in dessen gefetteten Normalschliff die Elektrode ständig unter dest. Wasser tauchend eingesetzt wird, wie es Abb. 4 zeigt.

2. Einrichtung für die Chinhydron-Kalomel-Kette.

Sie unterscheidet sich von der vorbeschriebenen Apparatur im wesentlichen nur durch den Tropfenträger, während der Glaskolben hier auch den Agarheber mit einem Normalschliff in immer gleichbleibender Lage trägt. An Stelle des Wasserstoffeinleitungsrohres tritt in gewöhnlichem Tubus gehalten ein Thermometer. In Abb. 5 ist der Tropfenträger im Schnitt, eingesetzt in den Glaskolben wiedergegeben. Der Tellerträger ist an den Boden dieses Stückes angeschmolzen, dessen Hohlraum seitlich mit benetztem Filtrierpapier (F) (gestrichelt in der Abbildung) ausgekleidet wird, um im Meßraum eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre zu schaffen. Dieser Tropfenträger ist derart dimensioniert, daß er ohne weiteres auch in die Apparatur

[1]) Fuhrmann, F., Elektrometrische p_H-Messung mit kleinen Lösungsmengen. Wien (Springer) 1941.

für die Wasserstoffkettenmessung eingesetzt werden kann, wodurch sie für beide Meßarten verwendbar wird. Soll jedoch vorwiegend mit der Chinhydron-Kalomel-Kette, also im p_H-Bereich bis 8,5 gemessen werden, empfiehlt sich die Verwendung der eben angeführten Spezialeinrichtung, zumal im geschlossenen Meßraum der Meßbereich unter Verwendung einer N-Atmosphäre der Meßbereich über 9,5 ausgedehnt werden kann[1]). Man wird auch aus Zeitersparnis lieber mit Chinhydron arbeiten, da hier die Potentialeinstellung fast augenblicklich erfolgt und daher eine Messung mit der Probenvorbereitung und Potentiometereinstellung kaum mehr als 3 Min. erfordert gegenüber 15—20 Min. bei der Messung mit der Wasserstoffelektrode.

3. Vor- und Nachbehandlung des Meßtellers, der Elektrode und des Agarhebers.

Bedingung für das Gelingen der genauen p_H-Messung ist das Nichtabfließen des Kulturtropfens vom Meßteller. Um dies zu erreichen, wird der Tropfenträger bis zum Rand der napfförmigen Vertiefung mit einer dünnen Paraffinschicht überzogen. Dazu dient eine 20proz. Lösung von Paraffin (ca. 58° Schmelzpunkt) in Tetrachlorkohlenstoff, die auf die reine Oberfläche des Tellerträgers mit einem Pinsel aufgetragen wird. Bei richtiger Behandlung des Tellers nach der Messung braucht dieser Überzug erst nach zahlreichen Messungen erneuert werden. Zur Messung mit Chinhydron wird dieses zuerst auf den Teller gebracht und dazu die Kultur fließen gelassen. Hierauf wird das Gefäß mit dem Tropfen sofort in den Meßkolben eingeführt und die Messung vorgenommen. Nach der Messung entfernt man zuerst den Agarheber, dann die Platinelektrode und zuletzt das Gefäß mit dem Meßteller, wobei dafür Sorge zu tragen ist, daß der Kulturtropfen nicht durch brüske Bewegungen abgeschleudert wird oder überfließt und das Gefäß selbst verunreinigt. Das Meßtellergefäß wird nun auf dem dazu bestimmten Bänkchen vorsichtig abgestellt. In Abb. 6 ist das Bänkchen mit je einem Tropfenträgergefäß für die Chinhydron- und Wasserstoffketten-Messung wiedergegeben. Die Tropfen sind deutlich zu erkennen. Mit einem Chinosol-Tupfer saugt man den Kulturtropfen ab, bringt Wasser auf den Teller, saugt dieses mit Filtrierpapier ab und reinigt ebenso mit 75proz. Äthyl- oder Methyl-Alkohol nach und läßt schließlich trocknen. Die Chinosoltupfer sind etwa 6 cm lange und 5 mm dicke Filtrierpapierröllchen, die mit einer 5proz. Chinosollösung in H_2O getränkt und dann getrocknet werden. In braunem Glase aufbewahrt, sind sie unbeschränkt haltbar.

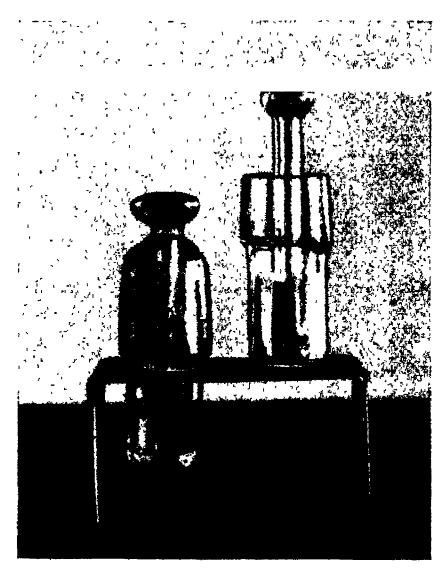


Abb. 6.

[1]) Fuhrmann, Fr., Zur Mikro-p_H-Messung mit Chinhydron. (Mikrochemie, Molisch-Festschrift. S. 130.) Wien (Haim) 1936.

Die *Platinelektrode* bedarf keiner besonderen Vorbehandlung und verbleibt nach der Reinigung am besten trocken und staubgesichert im Meßkolben, wie es aus Abb. 8 ersichtlich ist. Unmittelbar nach der Messung wird die Elektrode mit 75proz. Äthyl- oder Methylalkohol mit Hilfe einer kleinen Spritzflasche abgespült, dann über der nicht leuchtenden Gasflamme rasch getrocknet und erst kurz vor dem Wiedergebrauch schwach geglüht.

Vom verjüngten Schenkel des *Agarhebers* wird vor dem Einsetzen in den Meßkolben mit einem Filtrierpapierstreifen die überschüssige KCl-Aufbewahrungsflüssigkeit entfernt. Nach vollzogener Messung entnimmt man den Heber dem Meßkolben und spült dessen Spitze zuerst mit verdünntem Alkohol (wie bei der Elektrode) und dann mit gesättigter KCl-Lösung ab und bewahrt ihn wie früher angegeben auf.

Die Reinigung des Tellers mit dem Chinosoltupfer und nachheriger Behandlung mit Alkohol verbürgt die Ausschaltung jeder Infektion, worauf besonders beim Arbeiten mit pathogenem Material zu achten ist. Das gleiche besorgt die Alkoholreinigung der Elektrode und der Spitze des Agarhebers.

Abb. 7.

4. Gesamteinrichtung[1]) und die fortlaufende Messung.

Um eine gewisse Stabilität der Aufstellung dieser Meßketten zu erreichen, wurden sie auf schwereren Stativen aufgebaut, wodurch das Zusammenschalten der Teile im Gebrauch und bei der Aufbewahrung im gebrauchsfertigen Zustand wesentlich vereinfacht und erleichtert wird. Die folgenden Abbildungen veranschaulichen diese zusammengestellten Ketten außer Betrieb gebrauchsbereit und im Zustande des Gebrauches während der Messung.

So gibt Abb. 7 die *gebrauchsbereite Einrichtung* zur Messung mit der *Wasserstoffelektrode* wieder. Das Wasserstoffzuleitungsrohr verbleibt mit geschlossenem Hahn im Meßkolben. Der Elektrodentubus ist mit einem Glasstopfen verschlossen, während der Tubus für den Agarheber mit einem in die Kautschukgleithülse eingesetzten Glasstäbchen geschlossen ist. Das Meßtropfengefäß ist eingeschoben und so im Schliff gestellt, daß sich die Gasableitungsöffnungen *nicht* decken. Um ein zufälliges Herausgleiten des Trägerschliffes zu verhindern, sitzt der Gefäßboden auf einem durch eine Muffe gehaltenen und durch sie verstellbaren Ring auf. Das Kalomel-Halbelement wird mit einem gefetteten Kork bei geschlossenen Hähnen verschlossen. Der Agarheber ist in der bereits angegebenen Weise

[1]) Die beschriebenen Einrichtungen fertigt die Glasbläserei Kurt *Bartelt*, Graz, Morellenfeldgasse 15, an.

gebrauchsfähig versorgt. Auch die Wasserstoffelektrode ist in dem zugehörigen Schliff-Erlenmeyerkolben in dest. Wasser tauchend gebrauchsfertig untergebracht.

Abb. 8 ist das Lichtbild der Chinhydroneinrichtung während der Aufbewahrung. In diesem Falle verbleibt die Platinelektrode im Meßkolben, ebenso das Thermometer. Der Schlifftubus für den Agarheber wird mit einem Glasstopfen geschlossen. Das Tropfenträgergefäß sitzt gesichert im Meßkolben.

Um die Meßtropfenträgergefäße sicher abstellen zu können, ohne ein Umkippen befürchten zu müssen, wurde ein einfaches Metallbänkchen gestaltet, das einen Stift zum Aufsetzen für das Trägergefäß mit dem Chinhydrontröpfchen und einem kreisförmigen Ausschnitt zum Einsetzen des Trägergefäßes für den Wasserstoff-Meßtropfen besitzt. Abb. 6 zeigt diese Einrichtung im Gebrauch. Das leere Bänkchen ist in der Abb. 8 und 9 zwischen dem Chinhydron-Aufbewahrungsgefäß und dem Agarheber-Stativ zu sehen. Abb. 9 gibt die Chinhydronmeßeinrichtung im Gebrauch wieder, bereits an das Potentiometer angeschlossen. Hier sind die Chinosoltupfer bereitgestellt, um nach der Messung den Kulturtropfen sogleich abhängen und desinfizieren zu können. Vergleicht man die Abb. 7 und 9, erkennt man sofort, wie wenige Handgriffe notwendig sind, um diese Einrichtung von ihrem Aufbewahrungszustande in die Meßzusammenstellung überzuführen.

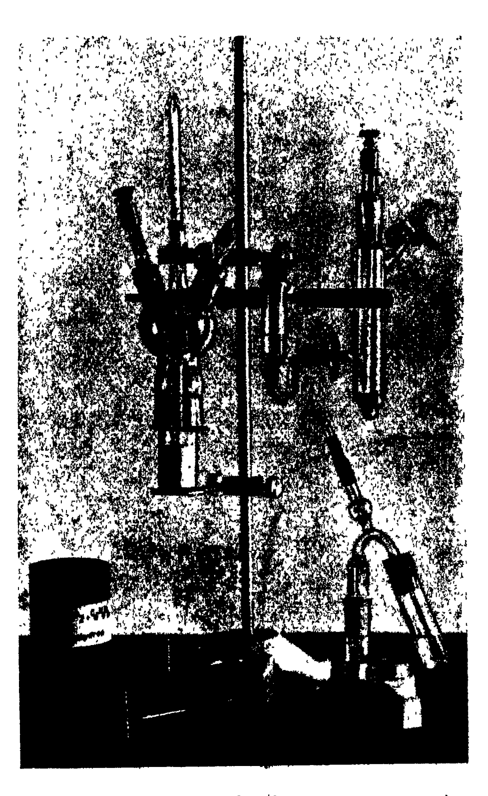


Abb. 8.

Schließlich sei noch ein Mikroben-Zuchtgefäß für flüssige Kulturen beschrieben, das eine sterile Entnahme von Proben in beliebigen Zeitabständen zuläßt. Bereits im Jahre 1935 wurde vom Verf.[1]) eine „Universal-Zuchtapparatur" beschrieben, die sich seither im Gebrauch sehr bewährt hat. Wenn es sich um bestimmte Untersuchungszwecke bei längeren gleichartigen Versuchen handelt, entwickeln sich aus dieser Universaleinrichtung Spezialkulturgefäße, von denen eines näher geschildert sei. Es wurde in erster Linie für flüssige Massenkulturen verwendet, in denen der Verlauf von p_H-Wert-Änderungen zeitlich verfolgt werden sollte. Wir arbeiteten mit Kulturmengen bis zu einem halben Liter. Es können aber ohne weiteres auch größere Kolben Verwendung finden. Abb. 10 zeigt rechts den mit Nährlösung beschickten und mit der Impf- und Entnahmeeinrichtung ver-

[1]) Fuhrmann, Fr., Eine Universal-Zuchtapparatur. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 92. 1935. S. 257.)

sehenen Zuchtkolben nach der Sterilisation impfbereit. Den Kolbenverschluß bildet ein Kautschukstopfen mit zwei Bohrungen, durch die links das Impfrohr und rechts das Entnahmerohr angeschlossen sind. Ersteres besitzt den Kugelansatz zur Aufnahme von etwa 2 ccm Nährlosung mit dem zylindrischen Ansatz, der mit einem Wattebausch verschlossen ist. Das Entnahmerohr ist in seiner Länge so berechnet, daß es eingeschoben bis zum Kolbenboden reicht. Der äußere Schenkel trägt einen glockenformigen Ansatz, der die nur wenige Millimeter uber den Glockenrand ragende Ausflußspitze seitlich umgreift und in seinem oberen Teil eine etwa 5 mm tiefe Einziehung ringsum besitzt. In diese rundum gehende Rinne wird ein Watte-

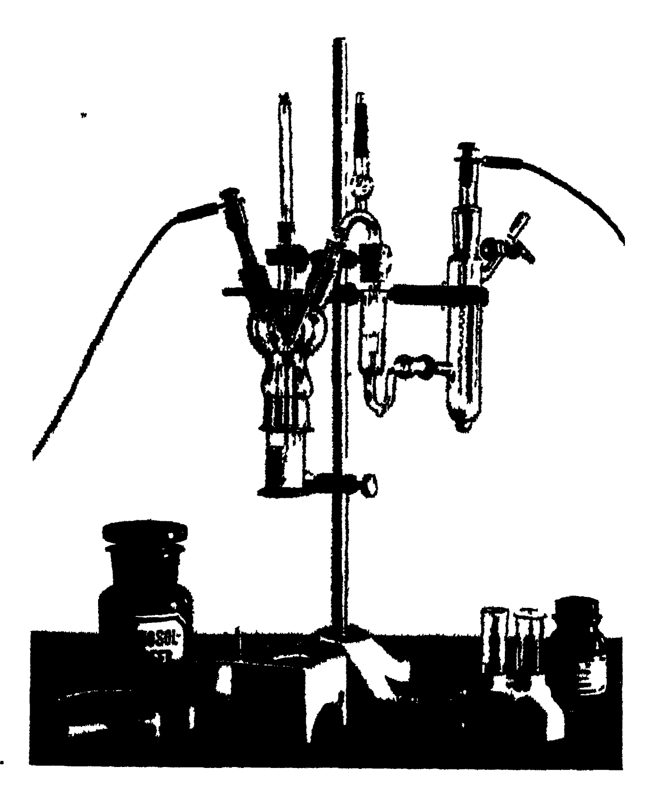


Abb. 9.

streifen festgedrückt eingelegt und dann die mit wenig Spiel passende Verschlußkappe aufgeschoben. So bildet der Wattering einen Luftfilter. Nach Abheben des Wattebausches vom Impfrohr wird die Nährflüssigkeit in der Kugel mit der Öse oder Nadel verimpft. Nun kann man entweder mit sehr wenig Impfmaterial die Impfung vornehmen und im Impfrohr davon eine Kultur sich entwickeln lassen oder man drückt die eben verimpfte Nährflüssigkeit sofort in den Kolben hinüber. In letzterem Falle schiebt man den Wattebausch in den Zylinder des Impfröhrchens hinein und setzt ein Einblasrohr auf, wie es am Impfrohr des linken Kolbens der Abb. 10 geschehen ist. Zu beachten ist, daß erst nach vollzogener Impfung des Kolbeninhaltes, also Entleerung der Kugel des

Impfrohres, das Entnahmerohr in die Flüssigkeit eingesenkt werden darf.

Die zeitweilige Entnahme von Kultur vollzieht man durch Lufteinblasung mit Hilfe des Impfrohres, nachdem vom Entnahmeeinsatz die Kappe abgenommen wurde, wie es aus der Abb. 10 links ersichtlich ist. Die tropfenweise Entnahme geht sehr leicht vonstatten, wenn man einen Niederdruck-Druckluftbehälter an das Einblaserohr unter Zwischenschaltung eines Quetschhahnes anschließt. Dabei gelingt es leicht, kleine Mengen langsam austropfen zu lassen. Für die p_H-Messung kann man so unmittelbar die Tropfen auf den Meßteller bringen.

Nach einer Entnahme schiebt man auf den Entnahmeansatz die Kappe auf, entfernt den Druckluftanschluß und saugt durch das Impfrohr Luft an, wodurch die Entleerung des Entnahmerohres erfolgt. Auf diese Weise konnten

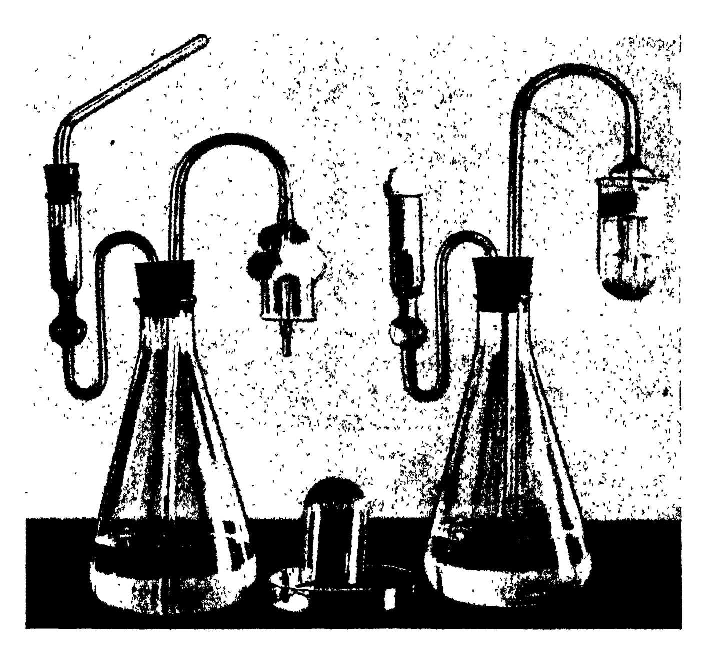


Abb. 10.

wir durch oftmalige Entnahme von wenigen Tropfen den zeitlichen Verlauf der Änderung der Wasserstoffionenkonzentration in Kulturen genau verfolgen, ohne die Kulturbedingungen einschneidend zu verändern, denn die Flüssigkeitsverminderung in der Kultur ist bei diesen kleinen Entnahmen so geringfügig, daß sie nicht beeinflussend in Erscheinung tritt.

Zusammenfassung.

Es wird eine neue, geschlossene, leicht und sicher zu desinfizierende Apparatur für die Wasserstoffkette und Chinhydron beschrieben, die insbesondere zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration in flüssigen Mikrobenkulturen dient. Weiter wird eine einfache Einrichtung für die Anlage größerer Mengen von Flüssigkeitskulturen geschildert, die eine fortlaufende sterile Entnahme kleiner Kulturproben für die p_H-Messung ermöglicht.

Über die K-Vitaminbildung einiger Darmbakterien.

Von **S. Orla-Jensen** und **Anna D. Orla-Jensen**
[Biotechnisch-chemisches Laboratorium der technischen Hochschule, Kopenhagen]

und **Henrik Dam** und **Johannes Glavind**
[Biochemisches Institut der Universität Kopenhagen].

Der geniale Gedanke Metchnikoffs, die Darmfäulnis mittels Milchsäurebakterien zu unterdrücken, hat die Colibakterien in ein falsches Licht gestellt und zu der Annahme geführt, daß es darauf ankäme, die Entwicklung der echten Milchsäurebakterien auf Kosten der Colibakterien zu fördern. Die Colibakterien sind ja selbst Milchsäurebakterien, und wirken somit fäulnishemmend, wenn nur eine geringe Menge Kohlehydrate zugegen sind. Bei normaler gemischter Kost und besonders bei Kost, die Milch, Milchzucker oder andere schwer resorbierbare Kohlehydrate enthält, können deshalb die Colibakterien nur in den allerletzten Darmabschnitten giftige Fäulnisprodukte wie Skatol, Indol, Kresol, Phenol und Schwefelwasserstoff bilden. Die Colibakterien verursachen zwar durch Vergasen eines Teiles der Kohlehydrate einen Kalorienverlust, da sie aber normalerweise in großer Menge im Darmkanal vorkommen, haben sie wahrscheinlich auch eine normale Funktion darin zu erfüllen.

Es ist dann auch behauptet worden, daß Colibakterien B_1-Vitamin erzeugen können. Dies scheint jedoch beim Menschen keine größere Rolle zu spielen, weil für den Menschen die Zufuhr sämtlicher Vitamine der B-Gruppe notwendig ist. Bei den Wiederkäuern ist diese Zufuhr mit dem Futter bekanntlich nicht notwendig, hier nimmt man aber an, daß es eher die besondere Mikroflora des Pansens als Bacterium coli ist, welche die K-Vitamine bilden. Nach den Untersuchungen von Almquist, Pentler und Mecchi[1]) sollen die Colibakterien das von H. Dam entdeckte fettlösliche K-Vitamin erzeugen können. Dieses Vitamin, das für die Bildung des Prothrombins des Blutes notwendig ist, kommt sonderbarerweise nur in äußerst geringer Menge in Milch und anderen tierischen Produkten, dagegen in größerer Menge in grünen Pflanzenteilen vor. Während die ersten Untersuchungen darauf deuteten, daß es sich um ein spezifisches Vogelvitamin handelte, welches für die Säugetiere ohne Bedeutung wäre, haben spätere Untersuchungen gezeigt, daß es auch für Menschen unentbehrlich ist, nicht nur um Neugeborene gegen Blutungen zu schützen[2]), sondern auch für Erwachsene als Schutz gegen die durch Okklusionsikterus hervorgerufenen sogenannten cholämischen Blutungen[3]). Almquist, Pentler und Mecchi haben vor den soeben zitierten Untersuchungen gezeigt, daß K-Vitamin durch Fäulnis von Fischmehl und durch mikrobiologische Prozesse im Darm gebildet wurde, und wenn nun die Colibakterien dafür verant-

[1]) Synthesis of the Antihemorrhagic Vitamin by Bacteria. (Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Vol. 38. 1938. p. 336—338.)

[2]) Dam, H., Hansen, E. Tage, and Plum, P., Vitamin-K Lack in Normal and Sick Infant. (The Lancet. 1937. p. 1157.)

[3]) Dam, H., and Glavind, J., Acta medica scandinavica (Stockholm). Vol. 96. 1938. p. 108.

wortlich gemacht werden, versteht man leicht, warum Vögel mit ihrem kurzen Darmkanal und neugeborene Kinder, deren Darm an Colibakterien arm ist, besonders zu K-Avitaminose geneigt sind.

Der Zweck dieser Arbeit war, zu untersuchen, ob außer den Colibakterien nicht auch die echten Milchsäurebakterien des Darmes imstande sind, K-Vitamin zu bilden. Von den verwendeten Colibakterien rührten zwei Stämme von Faezes gesunder Brustkinder und ein Stamm von einem gesunden Erwachsenen her. Von Bacterium bifidum haben wir ebenfalls zwei Stämme von Brustkindern und einen Stamm von einem Erwachsenen untersucht. Ferner haben wir je einen Stamm von Thermobacterium intestinale (Lactobacillus acidophilus Rettger)[1], von Microbacterium lacticum (Bacillus acidophilus Moro) und von Streptococcus faecium (Nr. 6) untersucht. Zur Züchtung der Bakterien verwendeten wir eine Nährbouillon, die außer den nötigen Salzen und 2% Traubenzucker 0,5% N enthielt, wovon drei Viertel von pepsinverdautem Kasein und ein Viertel von Hefeautolysat herrührte. Es wurde nicht viel mehr Kreide zugesetzt als zur Neutralisierung der gebildeten Säure notwendig war. Zwecks Neutralisierung wurden die Kulturen häufig durchschüttelt. Nach Beendigung der Gärung, die stets bei der Optimaltemperatur der betreffenden Arten stattfand, wurde eventuell überschüssige Kreide in der Kälte mit Salzsäure gelöst. Die Bakterien wurden dann ausgeschleudert, gewaschen, wieder ausgeschleudert und im Vakuumexsikkator bei Zimmertemperatur getrocknet.

Nach den Untersuchungen von Ansbacher[2]) ist anzunehmen, daß die Bakterien zur Bildung von K-Vitamin ein Provitamin beanspruchen. Um dies zu bestätigen oder zu entkräften, haben wir untersucht, ob die Colibakterien imstande sind, K-Vitamin in einem rein synthetischen Substrat, mit nur Asparagin und zitronensaurem Ammoniak als Stickstoffquelle, zu bilden[3]).

Zu K-Vitamin-Bestimmungen wurde die kurative Methode von Dam und Glavind angewandt[4]). Als Versuchstiere verwendet man Kücklein, die 3 Wochen mit einer K-Vitamin-freien Kost gefüttert worden sind, worauf sie die Substanz bekommen, deren Gehalt an K-Vitamin bestimmt werden soll. In zwei Blutproben, die entnommen werden unmittelbar vor der Eingabe der zu prüfenden Substanz und nachdem dieselbe 3 Tage verfüttert worden ist, bestimmt man den Prothrombingehalt, und aus der eventuell erstandenen Erhöhung läßt sich der K-Vitamingehalt der Substanz, also in unserem Falle der Bakterien, berechnen. Als Standardsubstanz wurde ein Spinatpräparat, das 500 Einheiten pro Gramm enthält, verwendet.

Während die von uns angewandten Nährsubstrate K-Vitamin-frei waren, zeigte es sich, daß 1 g Trockensubstanz der Colibakterien 750—1600 K-Vitamin-Einheiten enthielten, wenn die Bakterien in Kaseinpepton-Hefeautolysat-Bouillon gezüchtet waren, und rund 1000 Einheiten, wenn die

---

[1]) Orla-Jensen, S., Orla-Jensen, Anna D. und Winther, O., Bacterium bifidum und Thermobacterium intestinale. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 93. 1936. S. 321—343.)

[2]) Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Vol. 44. 1940. p. 248.

[3]) Hierüber ist bereits eine vorläufige Mitteilung in: Die Naturwissenschaften. Bd. 29. 1941. S. 287 gegeben.

[4]) Determination of Vitamin-K by the Curative Blood-Clotting Method. (Biochemical Journal. Vol. 32. 1938. p. 1018.)

Züchtung der Bakterien im synthetischen Substrat erfolgte. Da die Colibakterien somit ungefähr die gleiche Menge K-Vitamin enthielten, einerlei ob ihnen mehr oder weniger komplizierte Stickstoffnahrung zur Verfügung stand, ist kein Grund anzunehmen, daß sie zur Bildung des K-Vitamins eines Provitamins bedürfen. Es zeigen sich in dieser Beziehung auch keine Unterschiede, wenn die Colibakterien vom Kind oder von Erwachsenen herrührten. Im großen ganzen enthält die Trockensubstanz der Colibakterien 2—3mal soviel K-Vitamin als die Trockensubstanz des Spinats.

Was die Milchsäurebakterien des menschlichen Darmes betrifft, so war ihr Gehalt an K-Vitamin meistens so niedrig, daß er noch innerhalb der Fehlergrenzen der Meßmethode lag. Im Bacterium bifidum und Streptococcus faecium wurden jedoch in einigen Fällen pro g Trockensubstanz 200 Einheiten und in dem im Darme nur spärlich vorkommenden Microbacterium lacticum sogar 300 Einheiten gefunden.

Zusammenfassung.

Wenn auch den Milchsäurebakterien die Fähigkeit zur Bildung von K-Vitamin nicht völlig abgesprochen werden darf, so steht im Darme ihre Rolle in dieser Beziehung weit hinter derjenigen der Colibakterien zurück.

Vergleichende Untersuchungen über die Lauge-, Säure- und Hitzeresistenz von Weinhefen und sog. Torulaceen.

[Aus dem Botanischen Institut der Versuchs- und Forschungsanstalt für Wein- und Gartenbau in Geisenheim a. Rh. Vorstand: Prof. Dr. H. Schanderl.]

Von **Liesel Wienke.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die sog. Torulaceen, welche Sproßpilze mit noch vielfach wenig sicherer systematischer Stellung umfassen, sind in der Natur überall verbreitet. So kommen sie besonders zahlreich in Obstmosten vor. Sie vermehren sich sehr schnell, bilden aber keine große Gefahr bei der Weinbereitung, da sie durch den gebildeten Alkohol der Weinhefen bald im Wachstum gehemmt werden. In Süßmosten können sie sich viel unangenehmer bemerkbar machen und dort lästige Flaschentrübungen hervorrufen. Manche Torula-Stämme können auch Gärung bewirken, allerdings bilden sie nicht viel Alkohol, aber immerhin manchmal so viel, daß der Süßmost nicht mehr den Normativbestimmungen entspricht.

In der Süßmostpraxis macht sich das Auftreten von Masseninfektionen durch Torula-Hefen beim Abfüllen des Süßmostes in Flaschen mitunter recht störend bemerkbar, was wir auch an bei uns eingesandten Süßmostproben feststellen konnten und was Anlaß zu dieser Arbeit gab. In einem besonders hartnäckigen Falle zeigte sich beim Suchen nach der Infektionsquelle, daß die Flaschenspülmaschine, in der die Flaschen vor dem Abfüllen gereinigt werden, stark mit Torulaceen infiziert war. Diese entwickelten sich noch

in einer 2proz. Lösung Henkels P 3, die auf 50° C erhitzt, zur Verwendung kam. In dieser heißen Laugenlösung konnten diese Sproßpilze noch leben und sich vermehren, sie müssen also eine erstaunlich große Widerstandsfähigkeit sowohl gegenüber Laugen als auch gegen Erwärmen besitzen. In der vorliegenden Arbeit sollte die Widerstandsfähigkeit verschiedener Torula-Stämme gegenüber Säuren, Laugen und Erhitzen geprüft werden. Schnegg und Weigand geben in einer Arbeit „Borsäure-Studien" (1936) die Widerstandsfähigkeit von Torulaceen gegenüber 3—4proz. Borsäure an. Will (1913) zeigt, daß sog. schwarze Hefen in Nährlösungen mit Zusätzen von organischen Säuren (Apfel-, Zitronen-, Wein-, Bernstein- und Milchsäure) gedeihen können. Er gibt auch an, daß Hefekulturen, die 30 Min. auf 45° C erhitzt waren, noch kräftiges Wachstum beobachten ließen.

Aus der Hefesammlung des hiesigen Botanischen Instituts wählte ich Torula-Stämme aus, die in ihren Farbtönungen von gelblich-weiß, dem normalen Aussehen der Hefen zu rosa bis tief rot übergingen, auch wurde eine sog. „schwarze Hefe", ein schwarzer Torula-Stamm untersucht. Es wäre denkbar, daß die Farbstoffbildung einen gewissen Zusammenhang mit der Resistenz der Hefen gegenüber Säuren, Laugen usw. hat. Die mit Torula IX, Torula rot 18a T 51 und Torula rot 9 T 42 bezeichneten „Rosahefen" stammten aus der Sammlung des Gärungsphysiologischen Instituts (in Weihenstephan) der Technischen Hochschule München. Um zu sehen, ob etwa die Schleimbildung ein Schutz gegen schädigende Einflüsse ist, wurde auch eine typische „Schleimhefe" (isoliert von R. Meißner) als Versuchsobjekt verwendet. Zur Kontrolle wählte ich außerdem 11 Kulturhefen aus deutschen und ausländischen Weinen, um ihr Verhalten gegenüber Laugen, Säuren und Erwärmen zu prüfen.

Versuchsanordnung.

Als Nährböden für die Hefe diente Traubenmost von durchschnittlich 52° Öchsle und 12,3—14,2 g/l Gesamtsäure. Diesem Most wurden dann Laugen und Säuren prozentual zugesetzt. Reagenzgläser, die mit kernhaltigen Wattestopfen verschlossen waren, wurden mit je 10 ccm der Flüssigkeit zur Hälfte gefüllt. Nach dreimaligem Sterilisieren im Dampftopf wurden die Reagenzgläser mit je einer großen Öse der verschiedenen Kulturen beimpft und 8 Tage im Thermostaten bei 27° C belassen. Danach wurden sie mikroskopiert. Nach 14 Tagen bis 4 Wochen wurden sie abermals untersucht. Kulturen, die nur schwer angingen, mußten nach längerer Zeit (6—8 Wochen) noch einmal durchgesehen werden. Die Hefen wurden immer den gleichen Ausgangskulturen entnommen, die in Zeiträumen von einem halben Jahr abgeimpft wurden.

Versuche mit Natronlauge.

Der Traubenmost wurde mit 5, 10, 15, 20—65% Normal-Natronlauge versetzt und zu je 10 ccm in Reagenzgläser abgefüllt. Nach dreimaliger Sterilisation im Dampftopf an drei nacheinander folgenden Tagen wurden dann die Gläser gleicher Laugenkonzentrationen mit je einer Öse folgender Torula-Stämme beimpft: Torula IX, Torulaspora fermentati Saito, Torula pulcherrima[1]), Schleimhefe IV Meißner,

[1]) Gegen Abschluß vorliegender Abhandlung erschien eine Arbeit von Windisch, worin er nachweist, daß Torulopsis pulcherrima kein Saccharomycet ist, sondern zu den Exoascales gehört. Windisch stellt diesen Pilz zu der Gattung Candida. Auf die Arbeit von Windisch hin prüfte ich sofort, ob meine Torula pulcherrima in der von diesem Autor angegebenen Weise Sporen bildete. Ich kann die diesbezüglichen Angaben von Windisch vollauf bestätigen, nur der Einfachheit halber behalte ich in meiner Arbeit die alte Bezeichnung Torula pulcherrima bei.

Tabelle 1.

a) Gattung T o r u l a.

	p_H												
	4,5	4.8	5,3	—	9,5	9,6	10,6	[1]	—	—	—	—	—
Torula IX . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Torulaspora fermentati Saito . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Torula pulcherrima	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Schleimhefe IV Meißner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Torulaspora Delbrücki Lindner .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Rosahefe I . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Torulaspora Rosei Guillin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Torula rubra Lindner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Torula rot 18aT51	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Torula rot 9T42 .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Torula nigra . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65%
	Natronlaugezusatz												

b) Gattung S a c c h a r o m y c e s.

	p_H									
	4,5	4,8	5,3	—	9,5	9,6	10,6	—	—	—
Steinberg-Auslese	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Aßmannshausen 1926 II	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Rüdesheimer Berg 1920	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Würzburg Stein	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Bordeaux 1893	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Champagne Ay 1937	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Champagne Vertus 1926	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Cognac 1933	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Tokay 1905	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Jerez 1936	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Rioja Tempranillo	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50%
	Natronlaugezusatz									

[1]) Bei den höheren p_H-Stufen ergaben die einzelnen Bestimmungen keine übereinstimmenden Werte.

T o r u l a s p o r a D e l b r ü c k i - Lindner, R o s a h e f e I, T o r u l a s p o r a R o s e i Guillin, T o r u l a r u b r a Lindner, T o r u l a r o t 1 8 a T 5 1, T o r u l a r o t 9 T 4 2, T o r u l a n i g r a.

Im Kontrollversuch wurden 11 Weinheferassen, nämlich S t e i n b e r g - A u s l e s e, A ß m a n n s h a u s e n 1 9 2 6 II, R ü d e s h e i m e r B e r g 1 9 2 0, W ü r z b u r g S t e i n, B o r d e a u x 1 8 9 3, C h a m p a g n e A y 1 9 7 2, C h a m p a g n e V e r t u s 1 9 2 6, C o g n a c 1 9 3 3, T o k a y 1 9 0 5, J e r e z 1 9 3 6, R i o j a T e m p r a n i l l o in Most mit gleicher Laugenkonzentration wie die Torula-Arten geimpft und ebenso wie sie behandelt.

Nach achttägigem Aufenthalt bei 27° C im Thermostaten wurden die Kulturen durchgesehen und nach 4 Wochen zum zweitenmal.

Durch die Natronlauge werden die Farben der Hefe sehr schön gesteigert, besonders die roten Töne der Torulaceen wirken hier sehr leuchtend, die Heferinge an den Gläsern sind stark und fettig ausgebildet. Bei 25% Laugenzusatz werden die Ringe schmaler, die Farben verlieren sich und bei 30% Laugenzusatz erscheinen die Ringe rostig. Bei 50% Natronlaugenzusatz werden die Ringe ganz schmal und rostig. Als die widerstandsfähigsten Torulaceen erwiesen sich Torula rubra Lindner, Torula rot 9 T 4 2 und Torula nigra, die noch bei 60% Laugenzusatz, wenn auch schlecht, existieren können. Der empfindlichste Torula-Stamm ist, wie aus der Tabelle hervorgeht, Torulaspora fermentati Saito, sie stirbt schon im Most mit 50% Natronlaugezusatz ab, in dem die meisten noch ganz gut leben können.

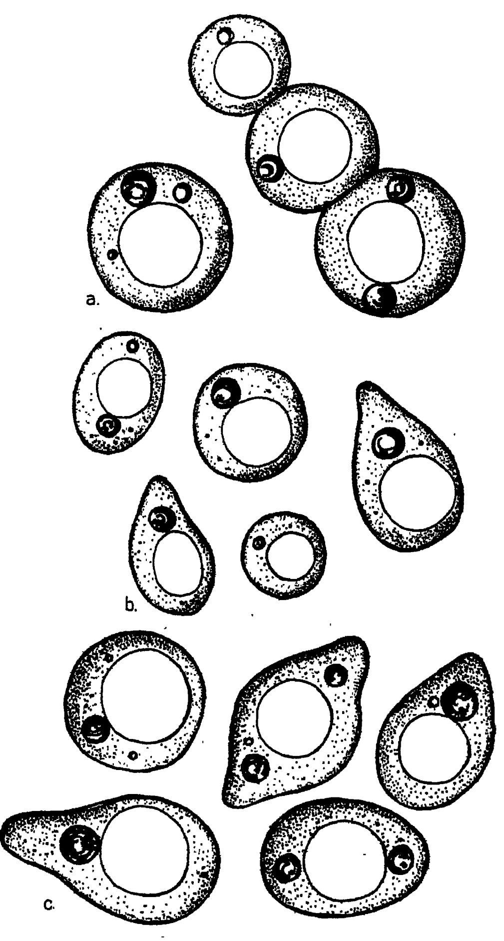


Abb. 1. Die Zellformen von Torula pulcherrima: a) in reinem Traubenmost, b) in Traubenmost nach ½stünd. Erwärmung auf 45° C, c) in Traubenmost + 25%. Natronlauge ($p_H = 9{,}5$).

Der Laugenzusatz bewirkt, wenigstens bei den höheren Prozenten, eine starke Formveränderung der Zellen. Von 25proz. Natronlaugezugabe ab findet man zwischen normal gestalteten Hefezellen andere Formen, es treten zuerst vereinzelt in höheren Prozenten häufig bis sehr häufig apikulatusartige Zellen auf (s. Abb. 1). Daneben finden wir viel größere und normal große, ovale Zellen und normale runde Zellen. Bei älteren Kulturen ist die Torula-Form oft in eine aufgeblasene Riesenzelle verwandelt, kreisrund mit großen Öltropfen. Bei den höchsten Laugenprozenten, die die Torulaceen ertragen können, treten auch Kümmerformen auf, Formen, bei denen die Zellen nur schlecht ausgebildet sind, das Plasma hat nicht den seidigen Glanz gesunder junger Zellen und ist körnig. Man sieht dem ganzen Habitus der Zelle an, daß sie nur mit äußerster Mühe vegetieren kann.

Die Torulaceen entwickeln sich hier in einem p_H-Bereich, der zwischen 3,22 (p_H von reinem Traubenmost) und 11,5 liegt, sie können also in stark sauren Lösungen, in schwach sauren, in neutralen (bei 20,5proz. Laugenzusatz

ist der Neutralisationspunkt erreicht), in schwach alkalischen und stark alkalischen Lösungen gedeihen. Sie sind bei ihrer Entwicklung sehr wenig von der Wasserstoffionenkonzentration ihrer Nährlösung abhängig.

Die Weinhefen der Gattung Saccharomyces dagegen (Kontrollversuche) können nicht in diesem weiten p_H-Bereich leben. Ihre Nährlösung muß in diesem Fall sauer, neutral oder höchstens mittel-alkalisch sein. Die widerstandsfähigsten Hefen ertragen noch 40% n-Natronlaugezusatz, eine mittlere alkalische Lösung. Zu diesen Hefen gehören: Rüdesheimer Berg, Tokay, Cognac usw. Der Bodensatz ist wie bei den Torulaceen immer gut entwickelt.

Bei höherem Laugenzusatz treten zwischen den normalen, ovalen Zellformen anders gestaltete auf, wir finden auch hier apikulatusartige Zellen, da die Saccharomyces-Arten im allgemeinen größere Zellen als die Torulaceen aufweisen, so sind auch die zugespitzten Formen hier größer. Die Weinhefezellen, die diese neue Form nicht aufweisen, neigen immer mehr dazu, kreisrund zu werden. Bei den höchsten erträglichen Laugenprozenten treten dann viel Kümmerformen auf, sie sind kleiner, und ihr Plasma ist ungleichmäßig.

Versuche mit Barytlauge.

Gesättigte Barytlauge wurde mit Traubenmost vermischt, so daß der Most je um 5% ansteigend von 5—90% Barytlauge enthielt. Wenn 25 ccm Most mit 13,6 ccm gesättigter Lauge titriert werden, ist der Neutralisationspunkt erreicht. Die gestopften Reagenzgläser wurden mit 10 ccm der Flüssigkeit beschickt, sterilisiert, mit den vorher genannten Torula-Stämmen und Weinheferassen beimpft. Im Thermostaten bei 27° C entwickeln sich dann die Hefen in denen ihrem Wachstum noch möglichen Bereichen.

Die Heferinge der Torulaceen werden durch den Einfluß der Barytlauge charakterisiert, die Farbtönungen erscheinen zart, aber eindeutig, die Rosatöne herrschen vor. Bis 55% Laugezusatz sind die einzelnen Farben noch zu unterscheiden, dann werden die Heferinge gleichmäßig rostfarben und mit zunehmenden Laugenprozenten immer schmäler, bis sie schließlich verschwinden und nur etwas Bodensatz bleibt. Bei 70proz. Barytlauge fällt: Torula IX, Torulaspora fermentati Saito, Torula pulcherrima, Schleimhefe IV Meißner, Torulaspora Delbrücki Lindner und Torulaspora Roseï Guillin aus. Nur Torula rot 18a T 51 und Torula nigra halten noch 80proz. Lauge aus. Bei 90% kann sich allein noch Torula nigra behaupten, das Hefedepot ist sehr schwach geworden. Es treten viel Apikulatus-Formen und größere ovale und runde Zellen und kleinere runde Zellen auf. Außerdem beobachtet man viele runde Riesenzellen, die dunkelbraun gefärbt sind.

Durch den Einfluß der Barytlauge ändert sich bei allen Torula-Arten allmählich die runde Form ab. Der p_H-Bereich, in dem die Torulaceen hier existieren, erstreckt sich von 3,42—10,45, Torula nigra kann sogar bei p_H 11,85 noch vegetieren.

Auf die echten Hefen dagegen wirkt die Barytlauge viel schädlicher als auf die Torulaceen. Schon 40proz. Laugezusatz vermindert das Wachstum der Hefe sehr, zum Teil fallen dann die Ringe des oxydativen Stadiums schon fort. 45proz. Zusatz ertragen nur die Heferassen Tokay und Cognac noch.

Tabelle 2.

a) Gattung Torula.

	p_H												
	—	3,6	3,9	4.2	5,4	—	9,9	—	10,5	—	11,2	—	11,9
Torula IX . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Torulaspora fermentati Saito .	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Torula pulcherrima	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Schleimhefe IV Meißner	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Torulaspora Delbrücki Lindner .	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Rosahefe I . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Torulaspora Rosei Guillin	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Torula rubra Lindner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Torula rot 18aT51	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Torula [illegible]t 9T42 .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Torula [illegible]ra . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	10	20	30	40	50	60	65	70	75	80	85	90%
	Barytlaugezusatz												

b) Gattung Saccharomyces.

	p_H						
	—	3,6	3.9	4,2	5.4	—	—
Steinberg-Auslese	+	+	+	+	+	—	—
Aßmannshausen 1926 II	+	+	+	+	+	—	—
Rüdesheimer Berg 1920	+	+	+	+	+	—	
Würzburg Stein	+	+	+	+	+	—	—
Bordeaux 1893	+	+	+	+	+	—	—
Champagne Ay 1937	+	+	+	+	+	—	—
Champagne Vertus 1926	+	+	+	+	+	—	—
Cognac 1933	+	+	+	+	+	+	—
Tokay 1905	+	+	+	+	+	+	—
Jerez 1936	+	+	+	+	+	—	—
Rioja Tempranillo	+	+	+	+	+	—	—
	5	10	20	30	40	45	50%
	Barytlaugezusatz						

Die Form der Hefezelle verändert sich auch hier durch den Charakter des sie umgebenden Mediums. Der p_H-Bereich, in welchem die Weinhefen noch normal gedeihen, geht hier nur bis 5,28, also nur bis zum schwach sauren Gebiet. Da, wie man aus den folgenden Versuchsreihen mit Kalilaugezusatz ersehen kann, die gleichen Hefen an sich bei viel niedrigerer Wasserstoffionenkonzentration noch gut gedeihen können, muß aus ihrem Verhalten gegenüber Barytlauge geschlossen werden, daß sie empfindlich gegenüber Baryumionen sind und dazu weit empfindlicher als die Torula-Arten.

Versuche mit Kalilauge.

Dem Most (Gesamtsäure 14,2 g/l als Weinsäure berechnet) wurde Normal-Kalilauge zugesetzt. Als Versuchshefen wurden die gleichen Torulaceen und Weinhefen benutzt wie beim ersten Versuch mit Natronlauge und ganz gleich behandelt. Der Laugezusatz macht sich schon äußerlich an den Hefekulturen bemerkbar, *die Heferinge des oxydativen Stadiums haben wieder viel leuchtendere Farben als die unbehandelten Stämme. Die Ringe sind sehr stark ausgebildet.* Bei höherem Laugezusatz sind die Heferinge allmählich schmaler und mattfarbiger geworden, bei 25% Kalilauge sind sie nur noch schmal angedeutet und rostfarben und nehmen dann immer mehr ab. Bei 30% Laugezusatz ist die Grenze erreicht, bei der schon 4 Heferassen, die sonst zum Teil wenig empfindlich sind, ausfallen. *Torula nigra* gibt ein einzig dastehendes Beispiel der Resistenz, sie gedeiht noch in reiner n/3-Kalilauge, ihr Wachstum ist nicht üppig, aber absolut eindeutig nachweisbar. Was kann nun dieser Torula in der Lauge als Nahrungsquelle dienen? Es wäre möglich, daß beim Überimpfen aus der Mostkultur etwas von dem durch das Stehen eingedickten Most in der Öse der Impfnadel mit in die Kalilauge gebracht worden ist. Es kann sich dabei aber nur um eine so kleine Menge handeln, daß sie als Nahrungsquelle sehr bald erschöpft sein dürfte. Andererseits zieht aber die Kalilauge aus der Luft alle flüchtigen Verbindungen, die bei Gärversuchen in einem gärungsphysiologischen Laboratorium ja reichlich entstehen, an und bindet sie. Es besteht die Möglichkeit, daß sich dadurch den Hefezellen eine Nahrungsquelle bietet und diese von ihnen in ähnlicher Weise ausgenutzt wird, wie es von *Schanderl* und *Kiene* für den Kellerschimmel *Cladosporium cellare* Schanderl (Persoon) nachgewiesen wurde. *Schanderl* zog diesen Pilz in kohlenstofffreien Mineralsalzlösungen, die mit einem Wattebausch verschlossen lediglich in einem Thermostaten mit Hefekulturen standen. Die in einem solchen Thermostaten reichlich vorhandenen Dämpfe von Alkoholen, Estern, Aldehyden und flüchtigen Säuren genügen *Cladosporium cellare* als Kohlenstoffquelle. *Kiene* hat diese Befunde bestätigt und auf Stickstoff- und Schwefelverbindungen erweitert.

Neuerdings gelang es *Schanderl* nachzuweisen, daß der Kellerschimmel und hautbildende Hefen, darunter auch Torulaceen, den *elementaren* Stickstoff zu assimilieren vermögen. Aus diesen Befunden geht jedenfalls das eine mit Sicherheit hervor, daß auch gasförmige chemische Stoffe für Mikroorganismen zum Fristen eines bescheidenen Daseins ausreichende Nahrungsquellen darstellen können, so daß das Wachstum von *Torula nigra* auf reiner n/3-Kalilauge durchaus in den Rahmen der Befunde von *Schanderl* und *Kiene* paßt.

Durch den Laugeneinfluß zeigt sich wieder eine Formveränderung der Torula-Zellen. Bei Rosahefe I finden sich neben normalen Formen auch Kümmerformen. Bei anderen Torula-Arten treten kleine, ovale und wurstförmige und auch apikulatusartige Formen auf. Es sind auch oft Riesenzellen mit großen Öltropfen, die wahrscheinlich mit der Sporulation der Hefen in Zusammenhang stehen, zu beobachten. Der p_H zieht sich vom sauren Bereich in den der starken Laugen, als Extrem $p_H = 11{,}48$.

Den echten Hefen schadet starker Kalilaugezusatz ebenfalls nicht, sie können bei 30% Laugezusatz noch sehr gut gedeihen. Die Zellen werden

Tabelle 3.

a) Gattung T o r u l a.

	p_H						
	3,8	5,2	5,8	10,2	10,8	11,5	
Torula IX	+	+	+	+	+	—	—
Torulaspora fermentati Saito .	+	+	+	+	+	—	—
Torula pulcherrima	+	+	+	+	+	+	—
Schleimhefe IV Meißner . . .	+	+	+	+	+	+	—
Torulaspora Delbrücki Lindner .	+	+	+	+	+	+	—
Rosahefe I	+	+	+	+	+	+	—
Torulaspora Rosei Guillin . . .	+	+	+	+	+	+	—
Torula rubra Lindner	+	+	+	+	+	+	—
Torula rot 18aT51	+	+	+	+	+	—	—
Torula rot 9T42	+	+	+	+	+	—	—
Torula nigra	+	+	+	+	+	+	+
	5	10	15	20	25	30%	n/3 Kalilauge
	Kalilaugezusatz						

b) Gattung S a c c h a r o m y c e s.

	p_H						
	3,8	5,2	5,8	10,2	10,8	11,5	
Steinberg-Auslese	+	+	+	+	+	+	
Aßmannshausen 1926 II . . .	+	+	+	+	+	+	
Rüdesheimer Berg 1920	+	+	+	+	+	+	
Würzburg Stein	+	+	+	+	+	+	
Bordeaux 1893	+	+	+	+	+	+	
Champagne Ay 1937	+	+	+	+	+	+	
Champagne Vertus 1926 . . .	+	+	+	+	+	+	
Cognac 1933	+	+	+	+	+	+	
Tokay 1905	+	+	+	+	+	+	
Jerez 1936	+	+	+	+	+	+	
Rioja Tempranillo	+	+	+	+	+	+	
	5	10	15	20	25	30%	
	Kalilaugezusatz						

in diesem p_H-Bereich mehr rund, es kommen aber auch noch normale Zellen vor.

Versuche mit Säuren.

Da nicht anzunehmen ist, daß gegen Lauge resistente Organismen Säuren gegenüber ein ähnliches Verhalten zeigen, wurde auch mit einigen Säuren experimentiert. Es sollte bestimmt werden, bei welcher Konzentration der organischen Säuren noch ein Wachstum möglich ist. Zu dem Traubenmost wurden 1—5% organischer Säuren: Bernstein-, Essig-, Zitronen-, Apfel-, Wein-, Milch-, Oxal- und Gerbsäure gegeben, je 10 ccm in Reagenzgläser mit Wattebauschverschluß abgefüllt und sterilisiert. Dann wurde der Most mit den gleichen Torulaceen und Weinhefe-Rassen geimpft wie bei den vorigen Versuchen. Es handelt sich also um die gleiche Versuchsanordnung wie bei den Laugen. Beim Durchsehen der Torulaceen-Kulturen fällt auf, daß die Heferinge im Durchschnitt nicht mehr so gut ausgebildet sind, die roten

Farbtöne haben ihre Leuchtkraft verloren, sind zu einem gelblich weißen bis schmutzigen Rosa abgeblaßt, bei stärkerem Säurezusatz verschwinden die Ringe oft völlig.

Apfelsäure als 1—4proz. Zusatz, wirkt auf die Torulaceen kaum schädigend, die meisten behalten ihre normale runde Zellform, nur einige neigen zu mehr ovalen Zellgestalten. Aber schon 5proz. Apfelsäurezusatz läßt 4 Torulavertreter nicht mehr aufkommen, während in der gleichen Konzentration keiner der 11 Saccharomyces-Vertreter weder ausfällt noch Veränderungen zeigt.

Zitronensäure ließ mit p_H 2,7 schon die Hälfte der Torulaarten nicht mehr aufkommen, während in gleichem p_H-Bereich nur 1 Saccharomyces-Vertreter (trotz mehrfachen Nachimpfens) ausfiel.

Milchsäure. Trotzdem der Milchsäurezusatz den p_H nicht so stark erniedrigte wie gleiche Konzentrationen von Zitronensäure, fielen hier bei 3proz. Zusatz schon 4 Torulaarten und bei 5proz. Zusatz 8 Torulaarten aus, während die Saccharomyces-Vertreter erst ab 5proz. Zusatz reagieren und nur mit drei Rassen. Bemerkenswert ist, daß die bei höheren Milchsäurezusätzen noch durchhaltenden Torulaarten Apikulatushefen-ähnliche, d. h. zugespitzte Zellformen annehmen.

Bernsteinsäure. Hier liegen die Verhältnisse wieder ganz ähnlich wie bei Apfel- und Zitronensäure: während keine der Weinheferassen auf den Zusatz von Bernsteinsäure reagierte, ließ 3proz. Zusatz schon 4, 4proz. Zusatz 5 und 5proz. Zusatz 7 von 11 Torulaarten nicht mehr aufkommen.

Weinsäure. Die Wirkung der Weinsäure auf das Wachstum der Torulaarten und Weinhefen der Gattung Saccharomyces ist ebenfalls eindeutig. Während ein Weinsäurezusatz von 2% keiner der Weinheferassen schadete, ließ der gleiche Zusatz bereits 3 Torulaarten ausfallen. 3proz. Zusatz ließ schon mehr als die Hälfte der Torulaarten nicht mehr aufkommen, während erst 2 Weinheferassen ausfallen. Während aber ab 4proz. Zusatz von Weinsäurezusatz keine Weinhefe mehr anging, vermögen Torula rubra Lindner und Torula nigra noch bei dieser hohen Wasserstoffionenkonzentration zu gedeihen.

Essigsäure. Aus der Praxis der Weinbereitung ist bekannt, daß Weinhefen gegenüber Essigsäure sehr empfindlich sind. Weine mit einem Essigsäuregehalt von 0,2% lassen sich nur mit Verzögerung angären, und die Durchgärung ist schleppend und nicht vollständig. Weine mit 0,5% Essigsäuregehalt lassen sich entweder überhaupt nicht oder nur mit monatelanger Verzögerung ganz schwach angären (s. Schanderl, Mikrobiologische Grundlagen der Weinbereitung und Früchteverwertung. 1936. S. 65 u. 66). Aus diesen Gründen ist es verständlich, daß in meinen Versuchen ein 1proz. Zusatz von Essigsäure auf die Weinhefen bereits letal wirkte.

Aber auch andere Saccharomyceten, wie die Kahmhefen, sind gegenüber Essigsäure, wenn auch in geringerem Grade als die Vertreter der Gattung Saccharomyces, empfindlich. Diesen Umstand nutzt man bei der Weinessigbereitung schon seit langem praktisch aus, indem man einen zur Essigbereitung bestimmten Wein mit mindestens 2% Essigsäure ansäuert. Auf diese Weise wird das Aufkommen der hier unerwünschten Kahmhefen unmöglich gemacht.

Auch die Torulaceen sind, wie meine Versuche zeigen, im allgemeinen gegen Essigsäure empfindlich. Auf die meisten wirkt 1proz. Essigsäure letal. Um so erstaunlicher ist es, daß zwei Vertreter davon eine Ausnahme machen, ja daß Torula nigra sogar 5proz. Essigsäurezusatz (die Konzentration eines leichten Speiseessigs!) noch glatt verträgt.

Oxalsäure und Gerbsäure. Diese Säuren wirken ähnlich der Essigsäure. 1% genügten, um sowohl die Torulaarten, als auch die Weinhefen zu unterdrücken, nur Torula nigra zeigt wieder eine unglaubliche Resistenz.

Überblickt man die Ergebnisse aller Versuchsreihen mit Säurezusätzen, so ist ersichtlich, daß die Weinhefen im allgemeinen wohl säureresistenter sind als die Torulaceen, daß dafür aber die Torulaceen als Ausnahmen, Arten mit ungewöhnlich hoher Säureresistenz aufweisen. Torula nigra, welche in bezug auf Laugenresistenz an der Spitze stand, ist auch in bezug auf Säureresistenz unerreicht. Diese schwarze Hefe verträgt p_H-Bereiche von 1,28 bis zum p_H reiner n/3-Kalilauge.

	Apfelsäurezusatz					Zitronensäure					Milchsäure					Bernsteinsäure				
	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%
pH	—	—	—	3,3	3,1	—	—	—	3,0	2,7	—	3,3	—	—	3,0	—	—	3,3	—	3,2
Torula IX	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Torulaspora fermentati Saito	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	—
Torula pulcherrima	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Schleimhefe IV Meißner	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+
Torulaspora Delbrücki Lindner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Rosahefe I	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—
Torulaspora Roseï Guillin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—
Torula rubra Lindner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Torula rot 18aT51	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—
Torula rot 9T42	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—
Torula nigra	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

	Weinsäurezusatz					Essigsäure					Oxalsäure					Gerbsäure				
	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%
pH	—	2,6	—	—	1,9	3,2	—	—	—	2,6	—	1,9	—	—	1,5	—	2,8	—	—	2,4
Torula IX	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torulaspora fermentati Saito	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torula pulcherrima	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Schleimhefe IV Meißner	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torulaspora Delbrücki Lindner	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rosahefe I	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torulaspora Roseï Guillin	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torula rubra Lindnor	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torula rot 18aT51	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torula rot 9T42	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torula nigra	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

	Apfelsäurezusatz					Zitronensäure					Milchsäure					Bernsteinsäurezusatz				
	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%
pH	—	—	—	3,3	3,1	—	—	—	3,0	2,7	—	3,3	—	—	3,0	—	—	3,3	—	3,2
Steinberg-Auslese	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Aßmannshausen 1926 II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Rüdesheimer Berg 1920	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Würzburg Stein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bordeaux 1893	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Champagne Ay 1937	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Champagne Vertus 1926	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cognac 1933	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Tokay 1905	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Jerez 1936	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rioja Tempranillo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

	Weinsäure					Essigsäure					Oxalsäure					Gerbsäure				
	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%	1	2	3	4	5%
pH	—	2,6	—	—	1,9	3,2	—	—	—	2,6	1,9	—	—	1,5	—	—	2,8	—	—	2,4
Steinberg-Auslese	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aßmannshausen 1926 II	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rüdesheimer Berg 1920	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Würzburg Stein	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bordeaux 1893	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Champagne Ay 1937	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Champagne Vertus 1926	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cognac 1933	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tokay 1905	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Jerez 1936	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rioja Tempranillo	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Versuche mit verschiedenen Temperaturen.

Da sich verschiedene der untersuchten Hefen gegen den Einfluß von Säuren und Laugen sehr widerstandsfähig verhalten, lag die Vermutung nahe, daß sie vielleicht auch gegenüber höheren Temperaturen sehr resistent sind. Die Reagenzgläser wurden mit 10 ccm Traubenmost beschickt und mit je einer großen Öse der verschiedenen Torula-Arten und zum Vergleich mit Weinhefestämmen beimpft. Das Material entstammte den gleichen Kulturröhren wie die ersten Versuchsserien. Die Reagenzgläser wurden dann 30 Min. lang in ein Wasserbad mit Temperaturen zwischen 35 und 60° C, und zwar von 5 zu 5° ansteigend, gestellt. Dann wurden sie in einem Thermostaten mit 27° C untergebracht. Nach 8 Tagen zeigte sich bei den Kulturen, welche niederen Wärmegraden ausgesetzt waren, ein kräftiges Wachstum, bei denen mit höheren Temperaturen erfolgte das Wachstum nur mit Verzögerung. Nach 30 Min. Erwärmung auf 45° C gedeihen die Torulaceen noch gut. Nach Erwärmung auf 50° C fallen schon 4 Stämme aus und das Wachstum der anderen ist spärlicher, nach ½stünd. Erhitzen auf 55° C ist die Auslese der resistenten Formen weit größer. Die Hefen, die nicht getötet wurden, sehen, mikroskopisch betrachtet, zum Teil „kränklich“ (Plasmatrübung) aus, sie vermehren sich aber doch deutlich. Die Heferinge sind bis zu 45° Erwärmung einschließlich gut ausgebildet, dann verschwinden sie allmählich. Die Farben sind leuchtend, besonders die roten Töne sind gut ausgebildet, allerdings nicht so gut, als wenn dem Most Lauge zugesetzt ist. Bei den Kulturen, welche über 40° C erhitzt worden waren, treten neben den eigentlichen Torula-Formen viel größere, ebenfalls kreisrunde Zellen auf. Die Hefe enthält viel Fettkügelchen. Bei höheren Temperaturen kommen dann noch ovale Zellen dazu, manche Zellen werden auch zugespitzt, so daß man beim Betrachten einer Kultur von T o r u l a p u l c h e r r i m a , welche auf 50° C erhitzt war, glaubt, einen Vertreter der Gattung K l o e c k e r a s p o r a vor sich zu haben (s. Abb. 1c).

Die Weinhefen halten eine so starke Erwärmung wie die Torulaceen nicht aus. Nach einer Erwärmung auf 40° C können sie noch gut gedeihen, 45° C ist dagegen bereits die kritische Temperatur, bei der schon einige Rassen absterben. Die Rassen südlicher Herkunft halten diese Temperatur noch gut aus. Nach einer Erwärmung auf 50° C sterben alle Hefen ab, das mikroskopische Bild zeigt nur noch Gerinnselformen. Von 40° C ab treten zwischen den normalen, ovalen Zellen große runde Zellen auf.

Man könnte versucht werden, anzunehmen, daß der Übergang in die runde Form ein Schutz gegen schädliche Einflüsse ist, da ja die Kugel der Körper mit kleinster Oberfläche ist und so die Hefe nicht in dem Maße der Schädigung ausgesetzt ist. Das Auftreten von zitronenförmigen Zellen bei den Torulaceen spricht aber gegen diese Deutung.

Zugleich zeigen die deutlichen Formveränderungen der Torula-Arten in Richtung zu den Apikulatus-Hefen, daß bei systematischen Untersuchungen auf die Zellformen als solche kein allzu großer Wert gelegt werden darf. Bemerkenswert ist, daß T o r u l a n i g r a , welche die größte Laugen- und Säureresistenz aufweist, auch in bezug auf Hitzeresistenz an der Spitze steht.

Zur Frage der Schleimbildung der Torulaceen.

In der Praxis der Gärungsgewerbe werden die Torulaceen häufig schlechthin als „Schleimhefen“ bezeichnet. In der Tat zeigen die meisten Torulaceen

Tabelle 6.

a) Gattung Torula.

30 Min. auf	35°	40°	45°	50°	55°	60° C
Torula IX	+	+	+	+	+	—
Torulaspora fermentati Saito	+	+	+	+	—	—
Torula pulcherrima	+	+	+	+	+	—
Schleimhefe I Meißner	+	+	+	—	—	—
Torulaspora Delbrücki Lindner	+	+	+	—	—	—
Rosahefe I	+	+	+	+	+	—
Torulaspora Roseï Guillin	+	+	+	—	—	—
Torula rubra Lindner	+	+	+	—	—	—
Torula rot 18aT51	+	+	+	+	+	—
Torula rot 9T42	+	+	+	+	—	—
Torula nigra	+	+	+	+	+	+
	erwärmt					

b) Gattung Saccharomyces.

30 Min. auf	35°	40°	45°	50° C
Steinberg-Auslese	+	+	+	—
Aßmannshausen 1926 II	+	+	+	—
Rüdesheimer Berg 1920	+	+	+	—
Würzburg Stein	+	+	+	—
Bordeaux 1893	+	+	—	—
Champagne Ay 1937	+	+	—	—
Champagne Vertus 1926	+	+	+	—
Cognac 1933	+	+	—	—
Tokay 1905	+	+	+	—
Jerez 1936	+	+	+	—
Rioja Tempranillo	+	+	+	—
	erwärmt			

auf festen Nährböden eine stark schleimige, fadenziehende Konsistenz. Diese soll nach ganz kurzen Hinweisen von Lindner und Meißner durch verschleimte Zellmembranen bzw. durch Schleimhüllen um die Zelloberfläche bedingt sein.

Färbt man aber derartige Torula-Arten aus fadenziehenden Kulturen mit Rutheniumrot, so kann man keine Schleimhüllen um die Hefe selbst (so wie es in einer Zeichnung von Lindner wiedergegeben ist) beobachten.

Der Schleim liegt vielmehr losgelöst von den Zellmembranen in mehr oder weniger stark verdichteten Klümpchen zwischen den Hefezellen (Abb. 2). Bemerkenswert ist, daß sich diese Schleimklümpchen auch mit Bakterienfarbstoffen anfärben lassen und dann granulierte Teilchen, durch ihre stärkere Farbstoffaufnahme, darin zu erkennen sind. Dies läßt auf Gegenwart von Eiweißstoffen schließen.

Derartige schleimige Ausscheidungen sind nicht allein bei den Torulaceen, sondern allgemein bei Hefen, vornehmlich bei hautbildenden, zu beobachten. Die Schleimbildung ist nach meinen Erfahrungen stark vom p_H abhängig, denn sie schwand selbst bei ausgesprochenen Schleimhefen (wie bei Schleimhefe IV, isoliert von Meißner) mit abnehmender Alkalität, bis im stark sauren Bereich kaum noch etwas daran festzustellen war. Die

sog. „Schleimhefen" sind also keine obligaten, sondern fakultative Schleimbildner. Bei der Obst- und Beerenweinbereitung werden daher nur solche Obstsäfte oder Weine durch Torulaceen schleimig und fadenziehend gemacht werden können, welche zu niedrige Säuregehalte aufweisen. Die extrazelluläre Schleim- und Eiweißbildung der Hefen im allgemeinen und der sog. „Schleimhefen" im besonderen wäre wert, genauer, vor allem biochemisch, studiert zu werden.

Besprechung der Ergebnisse.

In der Literatur wird schon die Zählebigkeit der Torulaceen hervorgehoben (Lafar 1904—1907), so scheint die Anpassungsfähigkeit mancher Torula-Stämme an Nährflüssigkeiten von sehr hoher Konzentration sehr weit zu gehen. Bei Will ertragen alle untersuchten Arten eine direkte Behandlung mit einer 4proz. Weinsäurelösung während 48 Std. bei 25° C. Auch meine Torula-Stämme waren gegen Weinsäurezusatz recht resistent. Meißner hat seinen Schleimhefen $^1/_{16}$, $^1/_8$, $^1/_4$ und 1% Tannin zugesetzt. „In den Mosten hatte zwar eine Entwicklung des Organismus stattgefunden, aber in einer Weise, daß mit steigendem Tanningehalt die Vermehrungsgröße abnahm. Bei 1% Tanningehalt des Mostes war nur eine sehr geringe Vermehrung des Schleimpilzes mikroskopisch zu konstatieren. Es steht daher außer Zweifel, daß Tannin die Wachstums- und Vermehrungstätigkeit der Schleimhefen hemmt." Ich setzte 1% Tannin zu. Diese Konzentration wirkte letal, ausgenommen ist die resistenteste Form: Torula nigra. Nach Scheckenbach fand bei 0,5—0,6proz. Essigsäurezusatz zu einer Peptonlösung noch eine Entwicklung der Torula-Arten statt. Eine 1proz. Zugabe von Essigsäure wirkte auch auf meine Torulaceen letal, ausgenommen ist wieder Torula nigra. Bei Meißners Versuchen war die Resistenz der Schleimhefen gegen Essigsäure auch sehr gering. Bei Scheckenbach ließen Zusätze von 2,9% Milchsäure, gesättigter Bernsteinsäure, 4,5proz. Apfelsäure, 2,2proz. Weinsäure, 5,1proz. Zitronensäure noch eine Entwicklung seiner Torulaceen zu. Mit diesen Werten stimmen die meiner Versuche eigentlich recht gut überein. Schnegg und Weigand (1936) geben an, daß Torula-Stämme sogar in 3—4proz. Borsäurelösung vegetieren können. Mit Borlösung arbeitete ich nicht, doch konnte ich feststellen, daß Torula nigra sogar noch in reiner n/3-Kalilauge, wenn auch schlecht, vegetieren kann. Bei Will überdauerten sieben der von ihm untersuchten Arten nach achttägiger Kultur in Würze noch ein ½stünd. Erhitzen bei 65° C, während die übrigen schon bei 60° C abgetötet waren. Eine Torula von F. Schön-

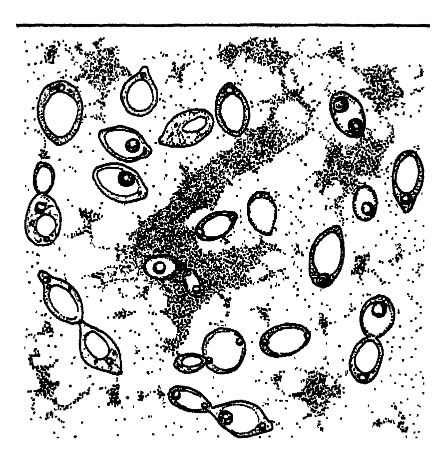


Abb. 2. Mikroskopisches Bild einer stark fadenziehenden Torula rubra-Kultur mit p_H 10,8. Der Schleim (punktiert gezeichnet) liegt außerhalb der Zellen, oft verdichtet zu kleineren und größeren Klumpen, in denen sich körnige, mit Bakterienfarbstoffen leicht färbbare Eiweißsubstanzen (dunkler gezeichnet) abheben. Gezeichnet nach einem Rutheniumrot-Präparat.

feld[1]) starb in Bier bei 1stünd. Erhitzen erst bei 68—75° C. Bei Meißner wurden die Reagenzgläser mit Kulturen im Wasserbad allmählich erwärmt und 5 Min. bei der angegebenen Temperatur gehalten. Die Hefen bleiben bei 49° C lebendig, ihre Resistenz gegen höhere Temperaturen nimmt bis zu 60° C ab. Die Rosahefe von E. Kayser[1]) war dagegen nur gegen Temperaturen von 45° C resistent. Meine Torula-Stämme leisteten Widerstand gegen 30 Min. langes Einwirken von Temperaturen bis 55° C. Meine Versuche stehen also in keinem Widerspruch zu den Literaturangaben, sondern bestätigen diese.

Nun fragen wir uns, wodurch ist diese so außerordentliche Resistenz der Torulaceen bedingt? Die Zelle wird doch nur durch eine feine Membran geschützt. Bieten vielleicht Schleimhüllen den Hefen Schutz oder handelt es sich um eine Art osmotischer Regulation? Bei der Untersuchung dieser Frage hat sich gezeigt, daß auf einem alkalischen Nährboden die Schleimbildung der Hefen gefördert wird. Aber es entstehen keine Schleimhüllen unmittelbar um die Zellen herum, sondern es werden Schleimklümpchen von den Zellen abgeschieden, die dann gesondert von ihnen liegen und den Hefezellen in dieser Art gar keinen Schutz geben können. Im stark sauren Bereich wurde fast gar keine Schleimbildung beobachtet und doch benötigen die Hefen auch in diesem Bereich ein Mittel, daß ihnen die Resistenz verleiht. Die Tatsache, daß in saurer Lösung allmählich die Schleimbildung abnahm, ist vielleicht so zu erklären, daß nur Laugen einen gewissen Reiz auf die Zellen ausüben und sie so zu verstärkter Schleimausscheidung anregen. Schnegg und Weigand fanden bei ihren Versuchen, daß Schleimbildung bei Torulaceen nicht als Schutz wirkt, sondern daß schleimfreie Formen viel resistenter sind.

Es könnte auch die Farbstoffbildung mit der Lauge- und Säurefestigkeit in Zusammenhang stehen, da sich vor allem Torula nigra als sehr resistent erweist, auch die roten Hefen, wie Torula rot 9T42 und Torula rot 18a T 51 waren wenig empfindlich. Eine Erfahrung Schneggs und Weigands spricht dagegen, bei denen ein weißer Torula-Stamm resistenter war als die dunkelgefärbten.

Es ist für das Süßmostgewerbe sehr unangenehm, daß die Torulaceen sich so resistent gegen chemische Einflüsse erweisen und man ihnen, wenn sie einmal Apparate infiziert haben, sehr schwer beikommen kann. In der Praxis haben sie ja auch die Möglichkeit, sich den schädigenden Faktoren allmählich anzupassen, so geben Schnegg und Weigand an, daß Torula-Stämme sich sogar in Apotheken und Drogerien an 3proz. Borlösung gewöhnen konnten. Wie kann man sich nun vor einer Infektion der in der Süßmosterei gebrauchten Apparate mit Torulaceen schützen? Und wie kann man eine einmal erfolgte Infektion beseitigen? Was den ersten Punkt betrifft, so ist es klar, daß peinlichste Sauberkeit und häufiges Reinigen sämtlicher Apparate und Einrichtungen, welche mit Süßmost in Berührung kommen, ein Einnisten der Torulaceen in einen Betrieb von vornherein verhindern. Wenn aber eine Infektion einmal erfolgt ist, so genügt, wie aus den Resistenzbestimmungen hervorgeht, nicht eine Anwendung einer kalten Lauge, auch eine auf 50° C erhitzte Lauge bietet noch keine Garantie für einen durchschlagenden Erfolg, erst die Anwendung von auf 70° C erhitzter Lauge kann einen Erfolg garantieren. Vor allem sind die schwarzen Hefen

[1]) Nach Will aus Lafars Handbuch d. techn. Mykologie.

durch ihre außergewöhnliche Resistenz sehr gefährlich. Mit Säuren würde man diese Hefen leichter vernichten können, aber nicht alle Einrichtungs- und Gebrauchsgegenstände von Süßmostereien vertragen eine Behandlung mit scharfen Säuren.

Für die Ökologie der sog. Torulaceen ist mein Befund nicht ohne Bedeutung, daß ein Vertreter auf reiner n/3-Kalilauge, ohne jeglichen sonstigen Zusatz gedieh, sich also von flüchtigen Verunreinigungen der Luft des gärungsphysiologischen Laboratoriums ernährt haben muß. In Weinkellereien und Süßmostbetrieben, wo ebenfalls genug flüchtige organische Verbindungen in die Luft gelangen, können sich derartige Torulaceen an beliebigen Stellen ansiedeln, welche bloß feucht genug zu sein brauchen.

Zusammenfassung.

1. Elf Torula-Stämme wurden auf ihre Resistenz gegen Laugen, Säuren und Erwärmen geprüft. Zur Kontrolle wurden mit 11 Weinheferassen der Gattung Saccharomyces die gleichen Versuche gemacht.

2. Es zeigte sich, daß die Torulaceen gegen Erwärmen ziemlich resistent sind. Erst eine Erwärmung auf 50—55° C, eine halbe Stunde lang, schädigt sie. Für Weinhefen ist dagegen bei gleicher Einwirkungsdauer schon 45° C die kritische Temperatur. Die Erwärmung wirkt stark formverändernd, sie zeigt sich mikroskopisch in veränderter Zellform (apikulatusartige und ovale Zellen bei Torulaceen, runde Zellen bei Weinhefen).

3. Gegen normale Laugen sind die Torula-Stämme recht resistent, am stärksten wirkt Kalilauge, am schwächsten Barytlauge, Natronlauge ergibt mittlere Werte. Dagegen wirken auf Weinhefen der Gattung Saccharomyces die Laugen anders, zum Teil schwächer, zum Teil stärker. Mikroskopisch zeigt sich der Laugeneinfluß in veränderter Zellform (wie oben).

4. Im sauren Bereich ist im allgemeinen die Resistenz der Torulaceen nicht so groß. Essig-, Oxal- und Gerbsäurezusatz wirken ab Konzentrationen von 1% auf die Mehrzahl der Arten absolut letal. Zwei Torula-Arten gediehen aber auch noch bei einem Gehalt der Nährlösung von 1% Essigsäure, Torula nigra sogar bis 5% Essigsäure. Die Weinhefen sind gegenüber Säuren, mit Ausnahme der Essigsäure etwas resistenter. Der Säurezusatz ruft ähnliche Formveränderungen hervor wie der Zusatz von Laugen.

5. Der p_H-Bereich, in welchem die Torula-Stämme leben können, geht von den Werten der starken Säuren bis zu den der starken Laugen.

6. Aus den Resistenzbestimmungen an Torulaceen geht hervor, daß sich Torulaceen-Infektionen an Maschinen und Einrichtungen von Süßmostbetrieben nur durch Anwendung von auf 70° C erhitzter Lauge mit Sicherheit beseitigen lassen. Auf 50° C erhitzte Lauge, wie sie normalerweise angewendet wird, genügt zur Abtötung gewöhnlicher Weinhefen der Gattung Saccharomyces, nicht aber für Torulaceen.

Ich möchte nicht verfehlen, Herrn Prof. Dr. H. Schanderl für seine Hilfe und Anteilnahme an dieser Arbeit meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Literatur.

Kiene, E., Über die Ernährung des Kellerschimmels mit verschiedenen gasförmigen Verbindungen und zur Frage seiner Duldung im Weinkeller. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 2. 1939. Heft 11/12. S. 698—706.) — Lafar, F., Handbuch der technischen Mykologie. Bd. 4. 1905—1907. S. 290—294. — Meißner, R., Studien über das Zähewerden von Most und Wein. (Landwirtsch. Jahr-

bücher. 1898. S. 715.) — Schanderl, H., Die mikrobiologischen Grundlagen der Weinbereitung und Früchteverwertung. 1936. — Schanderl, H., Untersuchungen über die systematische Stellung und die Physiologie des Kellerschimmels Rhacodium cellare Persoon. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 94. 1936. S. 121.) — Scheckenbach, J., Beiträge zur Kenntnis der Torulaceen in chemisch-physiologischer Beziehung. Dissertation Erlangen 1911. — Schnegg, H. und Weigand, K., Borsäure-Studien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 95. 1936. S. 154—167.) — Will, H., Beiträge zur Kenntnis der sogenannten schwarzen Hefen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. Nr. 1—3. 1913. S. 20—23.) — Windisch, S., Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an Torulopsis pulcherrima (Lindner) Saccardo und Candida tropicalis (Castellani) Berkhout. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 11. 1940. S. 368.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Escherich, K., Die Forstinsekten Mitteleuropas. 5. Bd. 2. Lief. Berlin (Paul Parey) 1941. S. 209—416. Preis 17,60 RM.

Die zweite Lieferung des 5. Bandes bringt den Schluß der Tenthrinidae (Blattwespen) an Laubhölzern. Diesen schließen sich die Siricidae (Holzwespen) an. Hierauf folgen als zweite Unterordnung der Hymenopteren die Terebrantia (Parasitica, Schlufpwespen und Gallwespen). Die umfangreiche Familie der Schlupfwespen ist eingeteilt in zoophage und phytophage. Entsprechend der größeren forstlichen Bedeutung wird das Hauptgewicht auf die in Insekten schmarotzenden Schlupfwespen gelegt. Diese machen, wie der Verf. bemerkt, einen wesentlichen Teil in der tierischen Zusammensetzung der Lebensgemeinschaft des Waldes aus. „Meiner Ansicht nach wird das Studium dieses Weges (gemeint ist die künstliche Vermehrung der Schlupfwespen im Kampf gegen Forstschädlinge) von der folgenden Generation der Forstentomologen mit größtem Ernst betrieben werden müssen, da ja nur dadurch, daß die Schädlinge und ihre Feinde in das richtige Verhältnis gebracht werden, unseren Wäldern eine größere Widerstandsfähigkeit gegeben werden kann." Diese klare Stellungsnahme des Verf.s verdient besonders hervorgehoben zu werden. Den Gegnern der „biologischen Bekämpfung" wird entgegengehalten, daß das, „was wir in der Forstschädlingsbekämpfung bisher versucht haben, kaum mehr als ein ganz schwaches Abtasten ist."

Die Cynipoidea (Gallwespen) beschließen diese Lieferung, welche wie die erste mit zahlreichen guten Abbildungen ausgestattet ist, und durch ihre Reichhaltigkeit und die gewohnt meisterhafte, sachliche Darstellung begeistert. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Allgemeines und Methodisches.

Albrecht, B., Ei-Nährboden mit Ei-Ersatzstoffen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 79—80.)

Die für gewisse Nährmedien vorgeschriebenen Eier lassen sich zur Hälfte mindestens durch Milei-G ersetzen (1 Ei = 1 gehäufter Eßlöffel, ca. 8 g, Milei-G, das mit 2 Eßlöffeln, ca. 36 ccm, Wasser glattgerührt werden muß). In weiteren Versuchen soll die Möglichkeit des völligen Ersatzes von Eiern durch Milei-G geprüft werden. *Rodenkirchen (Dresden).*

Clauberg, G., Ist Agar in der bakteriologischen Nährbodentechnik durch Kieselsäuregallerte ersetzbar? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 75—79.)

Es wird über Versuche zur Verbesserung von Wasserglasnährböden zum Zwecke der Agareinsparung berichtet. Als Nährlösung bewährte sich ein Gemisch aus 3 Teilen Glyzerin-Asparagin-Wasser (6 Teile Glyzerin und 0,4 Teile Asparagin auf 100 Teile dest. Wasser, mit Ammoniak auf p_H 7,5 eingestellt) und 6 Teilen Bouillon, die mittels Natronlauge auf p_H 7,5 eingestellt ist (oder Hefeextrakt nach Hettche und Münch). Die Nährlösung wurde mit 0,6 Teilen chemisch reinem Wasserglas und mit 25proz. Phosphorsäure (meist 0,27 Teile) auf p_H 7,2 eingestellt. Zur Beseitigung überschüssigen Quetschwassers wurden die Platten mit Tondeckel versehen und in strömender warmer Luft vorgetrocknet. Das auf Wasserglasnährboden erzielte Bakterienwachstum war im allgemeinen befriedigend. Gewisse typsche Merkmale mancher Keimarten traten jedoch nicht hervor (Farbstoffbildungsvermögen, Diphtheriebakterien büßten weitgehend ihre spezifische Form und Färbbarkeit ein). Selbst bei Wasserkeimzahlbestimmungen wurden teilweise Werte erhalten, die weit unter denen von Gelatineplatten lagen. Die Umstellung der Praxis auf Wasserglasnährboden wird deshalb vorläufig noch für verfrüht erachtet. *Rodenkirchen (Dresden).*

Seiffert, G., Eine einfache Methode zur laufenden Kontrolle von Sterilisationsapparaten usw. (Münch. med. Wochenschr. Jg. 88. 1941. S. 513—514.)

Die Prüfung von Sterilisationsapparaten durch Einlegen hochresistenter, an Fäden oder anderweitig angetrockneter Erdsporen und durch nachfolgende bakteriologische Untersuchung ist für die laufende Kontrolle zu umständlich, so unentbehrlich sie vor Inbetriebnahme von Apparaten und in gewissen Zeitabständen ist. Für jene Zwecke wird die Verwendung von Fettstiften empfohlen, deren Herstellung auf Vorschlag von Verf. die Fa. A. W. Faber, Castell, Nürnberg-Stein, übernommen hat. Es werden 2 Sorten von Farbstiften hergestellt. Die eine schlägt nach 20 Min. Einwirkung gespannten Dampfes von 110° von grün nach blau um, die andere nach halbstündiger Einwirkung trockener Heißluft von 170° von gelb nach ockerbraun. Die Stifte sind weitgehend kochbeständig, so daß nicht die Gefahr des Fortwaschens aufgetragener Schrift von Glas- und Metallgegenständen besteht. Diese Art der Sterilisationsprüfung dürfte auch für die Konservenindustrie Bedeutung haben, nur bei Prüfung von Schwarzblechdosen ist Vorsicht geboten. Durch Einwirkungen des Fettstiftmaterials auf die Lackschicht entsteht die Gefahr einer örtlichen Rostbildung. Versuche mit Stempelfarbe für Konserven-Großbetriebe sind vorläufig unbefriedigend verlaufen.

Rodenkirchen (Dresden).

Knöll, H., Beitrag zur Herstellung und zur Frage der Notwendigkeit sterilen destillierten Wassers. (Arch. d. Pharm. u. Ber. d. Dtsch. Pharm. Ges. Bd. 278. 1940. S. 212—227.)

Es gelingt nicht mit Sicherheit, steriles destilliertes Wasser allein durch den Destillationsprozeß herzustellen. Allerdings vermag der selbsttätige Destillationsapparat nach Stadler ein so keimarmes Wasser zu liefern, daß die üblichen Stichprobenuntersuchungen von wenigen Kubikzentimetern des Destillates eine Sterilität des Gesamtdestillates vortäuschen können.

Rodenkirchen (Dresden).

Immel, F., Neues Verfahren zur Reinigung gebrauchter Objektträger. (Münch. med. Wochenschr. Jg. 88. 1941. S. 579.)

Zur Reinigung gebrauchter Objektträger werden die seifensparenden

Mittel Praecutan und Satina empfohlen, die sich durch vorzügliches Fettlösungsvermögen auszeichnen. Es genügt in der Regel ein 5 Min. langes Kochen (unter mehrmaligem Umrühren) in Praecutan- oder Satinalösung (2 ccm Praecutan in 100 ccm Wasser oder 10 ccm Satina in 300 ccm Wasser); stark verschmutzte Objektträger müssen unter Umständen ein zweitesmal 3 Min. lang gekocht werden. Nach der Abkühlung Abgießen der Lösung und Spülen der Objektträger unter fließendem Wasser.

Rodenkirchen (Dresden).

Horstmann, H., Gefäß und Verschluß für die Tuberkelbakterienkultur. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1941. S. 382—389.)

Für die Züchtung von Tuberkelbakterien wird eine flache, achteckige Medizinflasche mit Schraubverschluß von 50 ccm Inhalt als besonders geeignet empfohlen. Sie gewährleistet einen keimdichten Verschluß, gutes Bakterienwachstum und verhütet vor allem den unerwünschten Kondenswasserschwund, in welcher Beziehung der Schraubverschluß selbst der Kapsenberg-Kappe unbedingt überlegen ist. Der für ein gutes Wachstum der Tuberkelbakterien erforderliche Luftaustausch ist durch kurzes Öffnen des Schraubverschlusses in Abständen von 14 Tagen gewährleistet. Hinsichtlich Preiswürdigkeit sind die Flaschen selbst Normalreagenzgläsern mit Watte-Paraffinverschluß erheblich überlegen. *Rodenkirchen (Dresden).*

Kunz, O., Ein einfaches und billiges Verfahren zur Herstellung einer Kohlensäureatmosphäre für Bakterienzüchtung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 206—208.)

Durch Verbrennen einer Paraffinkerze in einem luftdicht abgeschlossenen Gefäß, in dem sich die beimpften Nährböden in Petrischalen oder Kulturröhrchen befinden, läßt sich billig und einfach eine Atmosphäre mit vermehrter Kohlendioxyd- und Wasserdampfspannung herstellen. Die Paraffinkerze wird in der Weise hergestellt, daß in einem Petrischalendeckel (von etwa 6 cm Durchmesser) Paraffinum solid. purum (Schmelzpunkt 46—48°) verflüssigt wird. In die Mitte der Schale wird sodann ein etwa 3 cm langer Docht (am besten Asbestdocht) getaucht und dort so lange senkrecht gehalten, bis das Paraffin erstarrt ist. Die Kerze wird in ein mit Material beschicktes Glas obenauf gelegt und angezündet. Die Dichtung des Gases erfolgt durch Gummiring. Sobald sich unter der Flammenwirkung die Luft ausdehnt, wird der Deckel kurz gelüftet, so daß die überschüssige Luft entweichen kann. Durch Verbrennung des größten Teils des verbleibenden Sauerstoffs zu CO_2 und H_2O saugt sich der Deckel am Gefäß fest, und die Kerze verlöscht.

Das Verfahren hat sich den bisher gebräuchlichen überlegen gezeigt. Gewisse Mikrokokken und Streptokokken wuchsen in Paraffinkerzenflammen-Atmosphäre üppiger als unter aeroben oder streng anaeroben Bedingungen.

Rodenkirchen (Dresden).

Niklas, H. und **Toursel, O.**, Die Ermittlung von Spurenelementen mittels Aspergillus niger. (Bodenk. u. Pflanzenernährg. Bd. 23. 1941. S. 337—359.)

Die Aspergillusmethode ermöglicht, auf einfachem Wege das Vorhandensein bzw. Fehlen von Spurenelementen nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ nachzuweisen. Man bedient sich hierzu einerseits der Vollnährlösung (beschrieben in Bodenk. u. Pflanzenernährg. Bd. 18. 1940. S. 79) und

andererseits einer Nährlösung, in der das in Betracht kommende Spurenelement fehlt. Soll auf Spurenelemente geprüft werden, die in der normalen Nährlösung nicht vorhanden sind, so wird die Vollnährlösung mit einer solchen verglichen, der das betreffende Spurenelement noch eigens hinzugesetzt worden ist, zweckmäßig in der Konzentration von etwa 0,0001%. Es wird darauf hingewiesen, daß die Vollnährlösung noch eine Reihe unbekannter Spurenelemente vermissen läßt; denn beim Arbeiten mit dieser ohne Bodenzusatz werden stets nur etwa halb so hohe Myzelerträge erhalten wie nach Zusatz von etwas Boden. Selbst Zusätze von ausgeglühtem Sand in einer Menge von nur 10 mg steigerten die Ernten bis zu über 100%.

Rodenkirchen (Dresden).

Lockemann, G., Bär, F. und Totzeck, W., Über die keimtötende Wirkung von Alkoholen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 1—15.)

Bisher wurde allgemein die Anschauung vertreten, daß der wasserfreie Alkohol die Bakterien nicht abtöten könne, weil er auf die Zellwand härtend wirke und sich dadurch selbst den Zutritt ins Innere versperre. Durch Wasser werde die Wandung dagegen aufgelockert und so dem Alkohol durch Diffusion das Eindringen ermöglicht. Dieser Theorie widersprechen mehrere in vorliegender Arbeit mitgeteilte Versuchsergebnisse: Wasserhaltiger Äthylalkohol vermochte Streptokokken und Bact. pyocyaneum in trockenem Zustand abzutöten, und wasserfreier Methylalkohol wirkte auf alle geprüften Bakterienarten (hämolytische Streptokokken, Micr. albus, pyogenes aureus, Bact. coli, paratyphi B, pyocyaneum) binnen kurzem tötend. Propyl- und Isopropylalkohol dagegen erwiesen sich in wasserfreiem Zustand in allen Fällen als wirkungslos.

In Benzin gelöst, wirken — wie bereits von Endres festgestellt wurde — alle Alkohole in wasserfreiem Zustand bakterizid. Während von Methyl- und Äthylalkohol nur bis zu 2 bzw. 5 Teilen in 100 Teilen Benzin in Lösung gehen, sind Propyl- und Isopropylalkohol in Benzin unbegrenzt löslich. Ihre keimtötende Wirkung nimmt bis zu etwa 7% zu, um dann wieder abzunehmen und von etwa 20% an ganz zu verschwinden. In feuchtem Benzin vermindert sich die Bakterizidie des Methyl- und Äthylalkohols, diejenige des Propyl- und Isopropylalkohols dagegen erhöht sich.

Die in allen Fällen resistentesten Keime waren die Mikrokokken.

Eine Deutung der beobachteten Alkoholwirkung kann nicht gegeben werden. *Rodenkirchen (Dresden).*

Knorr, M., Über Gewinnung, Wirkung und Herkunft der keimschädigenden Stoffe („Bakterionoxine") im Mundspeichel. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 126. 1941. S. 59—86.)

Durch Stufenfiltration mit Ganzglasbakterienfiltern gelang in ¾ der untersuchten Speichel der Nachweis keimschädigender Stoffe. Der Gehalt an diesen Stoffen schwankte zu verschiedenen Zeiten ganz erheblich. Mit der Bezeichnung „Inhibine" (Dold und Weigmann) wird nur eine Teilwirkung des keimschädigenden Stoffes gekennzeichnet, die Bakterienhemmung, während er auch Modifikationen und mehr oder weniger umfangreiche Keimabtötung zur Folge hat. Es wird deshalb die allgemeinere Bezeichnung „Bakterionoxine" vorgeschlagen. Dabei handelt es sich um Stoffe, die thermostabil, filtrierbar und resistent gegen mehrtägige Aufbewahrung, Gefrieren und Auftauen sind. Sie wirken sowohl gegen grampositive wie gegen gram-

negative Keime. Quelle der Bakterionoxine sind in erster Linie die Speichelkörperchen, die durch Zerfall oder vitale Sekretion der Leukozyten frei werden (Endolysine oder Leukine).

Die Bakterionoxine werden nicht nur für die natürliche Immunität in der Mundhöhle für bedeutungsvoll gehalten, sondern kommen nach der Vermutung Verf.s auch im Magen-Darm-Kanal durch Verschlucken von Speichel zusammen mit Rhodan-Ionen zur Geltung. *Rodenkirchen (Dresden).*

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Doskočil, A., Die anaeroben Bazillen bei Diphtherie. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1941. S. 350—351.)

Gewisse Anaerobier, wie Bac. sporogenes und Bac. perfringens, steigerten in Versuchen mit Meerschweinchen die Virulenz der Diphtheriebakterien; apathogene Diphtheriebakterien erlangten auf diese Weise wieder ihre volle Virulenz. Da der Verlauf der Tierversuche im ganzen den klinischen Erfahrungen entspricht, ist damit zu rechnen, daß Anaerobier auch beim Menschen den Verlauf der Diphtherie erschweren.

Rodenkirchen (Dresden).

Poshakrishna, U., Die anaeroben Streptokokken des infizierten Wurzelkanals und ihr Verhalten. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1941. S. 325—346.)

Bei der Entstehung der Zahnkaries spielt — in Übereinstimmung mit den Befunden von Kruse, Seitz und Sperling — der Strept. lactis eine wesentliche Rolle. Nach wie vor ungeklärt bleibt aber die Frage, ob dieser Keim den Krankheitsprozeß selbst fördert oder ob er nur als Bahnbrecher wirkt. Obligat anaerobe Streptokokken fanden sich bei einem relativ kleinen Teil der untersuchten kranken Zähne (22%); es handelte sich dabei um eine anhämolytische Art, die Milch unverändert ließ. Fast mit Regelmäßigkeit wurde ein gramnegativer Mikrokokkus (Micr. Fischer-Schick) isoliert. Im Tierversuch (mit Mäusen) waren sowohl die Streptokokken als auch die Mikrokokken apathogen.

Rodenkirchen (Dresden).

Lipman, C. B., and McLees, E., A new species of sulfur-oxidizing bacteria from a coprolite. (Soil Science. Vol. 50. 1940. p. 429—432.)

Auf der Suche nach überlebenden Bakterien in prähistorischen Materialien fanden Verff. in einem Koprolithen der Triasformation ein Bakterium, das sowohl durch seine besondere Form als auch durch seine Fähigkeit auffiel, Schwefel und Thiosulfat energisch zu Schwefelsäure zu oxydieren. Es handelt sich um eine Art, die 0,1—0,2 $\times$ 6 — mehr als 40 μ groß, also ungewöhnlich dünn und lang ist. Sie zeigt zuweilen Spirillen-, häufiger Vibrionenform, oft aber auch gerade Stäbchen. Diese sollen beweglich sein vermittels einer polaren Geißel, die allerdings an den beigefügten Abbildungen nicht sicher zu erkennen ist, wie auch die Bildung sog. Regenerativkörper zweifelhaft erscheint. Von physiologischen Merkmalen dieses sehr eigenartigen Organismus sind besonders hervorzuheben das fakultativ autotrophe Verhalten, das ihn befähigt, sowohl in rein mineralischen Schwefel- oder Thiosulfat-Nährmedien als auch z. B. auf Pepton-Bodenextrakt-Agar zu gedeihen. Ausgezeichnet wächst er in alkalischer, schwefelhaltiger Nährlösung, in der aber nur geringe Trübung und keine Haut und kein Bodensatz gebildet wer-

den. Der p_H-Bereich, in dem Entwicklung stattfindet, erstreckt sich von 4,6—10.

Weil das Bakterium in mancher Beziehung von den bisher beschriebenen schwefeloxydierenden Formen abweicht, wird es als neue Art der Gattung Thiobacillus aufgefaßt und Thiobacillus coproliticus benannt.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Leinbrock, A., Über den Stickstoff-Stoffwechsel der Colibazillen. 1. Mitteilung: Über den Stickstoff-Verwendungs-Stoffwechsel und die quantitative Säurespaltung der Kohlehydrate durch Bact. coli in Aminosäure bzw. aminosäure- und peptonhaltigen synthetischen Nährlösungen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 105—135.)

Die Untersuchungen erstreckten sich 1. auf die Prüfung der Säurebildung durch Bact. coli aus Glukose (meist in 1proz. Lösung) bei Gegenwart verschiedener Aminosäuren bzw. einiger niederer Peptide (meist 1%) sowie von Pepton und 2. auf die Feststellung der Angreifbarkeit dieser verschiedenen Stickstoffquellen bei Abwesenheit von Glukose.

Die in einer Nährlösung mit 1% Pepton aus Glukose gebildete Säuremenge wurde in keinem Fall in Lösungen erzielt, die als Stickstoffquelle nur eine oder ein Gemisch verschiedener Aminosäuren enthielten. Es wurden allerdings nur 2 verschiedene Gemische von 5 bzw. 7 Aminosäuren in z. T. sehr geringen Konzentrationen geprüft. Die stärkste Säuerung wurde erzielt in einer Nährlösung mit 0,1% Pepton, 0,2% Asparagin, 0,1% Alanin, 0,1% Glykokoll, 0,5% NaCl und 1% Glukose. In den Versuchen mit nur einer Aminosäure war die Säurebildung immer noch als gut zu bezeichnen (und zwar bereits innerhalb von 24 Std.) bei Gegenwart von Glutaminsäure, Asparaginsäure oder Asparagin. Etwas geringer kam das Säuerungsvermögen zum Ausdruck, wenn Alanin, Tryptophan oder Cystin als Stickstoffquelle diente. Verzögert trat Glukosespaltung ein bei Gegenwart von Leucin (nach 3 Tagen deutliche Säuerung), von Glykokoll, Tyrosin, Alanylglycin oder Leucylglycin (nach 7 Tagen deutliche Säuerung); in Verbindung mit Glycylglycin oder Diglycylcin kam es erst am 7. Tag zu geringer Säuerung.

In glukosefreier Lösung wurden innerhalb von 24 Std. unter Bildung basischer Stoffwechselprodukte kräftig gespalten: Glutaminsäure, Asparaginsäure, Asparagin. Nicht wesentlich weniger stark wurde Cystin angegriffen, mäßig gut (erst nach 7 Tagen) Tyrosin und Alanylglycin, in noch geringerem Maße Glykokoll und Leucylglycin. Kaum zersetzt wurden Alanin, Tryptophan, Leucin, Glycylglycin und Diglycylglycin.

Rodenkirchen (Dresden).

Leinbrock, A., Über den Kohlehydrat-Stoffwechsel der Colibazillen. I. Mitteilung: Der intermediäre Kohlehydrat-Stoffwechsel der Colibazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 44—55.)

Übersicht über den heutigen Stand der Forschungen auf dem Gebiete des Kohlehydratabbaues durch Colibakterien. Danach verläuft der Glukoseabbau im großen und ganzen in derselben Weise wie unter dem Einfluß anderer Zellen (anderer Bakterien, Hefen, Muskel- und Leberzellen). Primär findet die Veresterung der Glukose statt, und zwar unter der Einwirkung von Magnesium-Ionen, Phosphat und Adenylpyrophosphorsäure, also des-

selben Cofermentsystems, das beim Glukoseabbau in der Muskelzelle tätig ist. Anschließend erfolgt die Spaltung in Triosephosphorsäuren und weiter zu Brenztraubensäure, die — je nach den vorliegenden Bedingungen (p_H usw.) — in Milchsäure bzw. Essigsäure bzw. Alkohol übergeführt wird unter Freiwerden von CO_2 und H_2. Über den Abbau anderer Kohlehydrate durch Coli sowie allgemein über den Kohlehydratabbau in Gegenwart anderer Bakterien, besonders der Darmbakterien, ist Näheres kaum bekannt. Ebenso ungeklärt ist die Frage, ob und inwieweit die Kohlehydrat-Abbauprozesse reversibel verlaufen können, d. h. Coli die Kohlehydratabbauprodukte zu assimilieren vermag.

II. Mitteilung: Über die bei der Spaltung von Kohlehydraten und mehrwertigen Alkoholen durch Bact. coli gebildete „Gesamtsäure" und ihre qualitative und quantitative Bestimmung (S. 57—74).

Aus 11 Stühlen gesunder Erwachsener isolierte Colistämme säuerten sämtlich (35) Glukose, Fruktose, Xylose und Laktose. Saccharose wurde nur z. T. angegriffen; Stämme aus dem gleichen Stuhl verhielten sich ihr gegenüber nicht einheitlich. Die aus den Kohlehydraten entstandene Säuremenge war am größten innerhalb der ersten 24 Std. Nach dem 7. Tag trat mitunter wieder eine gewisse Abnahme der Säuremenge ein.

III. Mitteilung: Bedingen die verschiedenen Colikolonien der ersten Endoagarplatte eines Stuhlausstriches dieselben qualitativen und quantitativen Säurespaltungen von Kohlehydraten und verwandten Stoffen? Eine Stellungnahme zur Typeneinteilung der Colibazillen (S. 137—160).

Es wird Stellung genommen gegen die Typeneinteilung der Colibakterien auf Grund verschiedenen Gärungsvermögens. Die in vitro feststellbaren Stoffwechselleistungen werden nur als phänotypische Merkmale des genotypischen Bact. coli angesehen. Es wird lediglich eine Einteilung in vollwertige „fermentstarke" und in geschädigte oder „fermentschwache" (fermentativ gehemmte) Colikeime für gerechtfertigt erklärt. Leider spricht für die Richtigkeit dieser Behauptung nur die seit langem bekannte Tatsache der besonderen Variationsneigung des Bact. coli; wirkliche Beweise können nicht erbracht werden. *Rodenkirchen (Dresden).*

Sabalitschka, Th. und **Penner, U.**, Wirkung des Alkohols verschiedener Konzentration auf feuchte und trockene asporogene Mikrobien. (Deutsche Apothekerzeitung. Jahrg. 55. 1940. S. 477.)

Auf Suspensionen von 24stünd. Schrägagarkulturen des Staphylococcus pyogenes aureus und des Bact. coli wirkte Alkohol in Konzentrationen von 70—96% bei Zimmertemperatur rasch abtötend. Auch absoluter Alkohol zeigte sich unter gleichen Bedingungen, wenn auch etwas langsamer, noch wirksam.

Wurden die asporogenen Bakterien jedoch an Battistläppchen zuvor angetrocknet, so war die abtötende Wirkung des Alkohols höherer Konzentration z. T. wesentlich geringer; bei Bact. coli erfolgte sie mit 96proz. und absolutem Alkohol nach 8 Std., Staphylokokken besaßen mit Alkohol gleicher Konzentration selbst nach 24 Std. noch ihre Lebensfähigkeit. *Stapp.*

Odintzowa, E. N., Einfluß von Vitamin B_1 auf die Vermehrung von Torula utilis (Torulopsis utilis). (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 3. 1940. S. 253—265.) [Russisch.]

Die ausgeführten Versuche ergaben, daß Vitamin B_1 eine aktivierende Wirkung auf die Vermehrung von Torula utilis ausübt; diese trat schon bei einer Dosis von 0,3 γ/1 ccm Nährsubstanz auf, und war optimal bei 10—15 γ; auch Dosen von 100 γ/1 ccm Nährsubstrat übten noch keine hemmende Wirkung aus. Vitamin B_1 beschleunigt die Anhäufung von Glykogen in den Zellen, wirkt bei der Synthese von stickstoffhaltigen Stoffen in diesen mit und steigert die Fettablagerung. *M. Gordienko (Berlin).*

Tausson, W. D., Umwandlung der Energie durch Mikroorganismen. XI. Über die Oxydation zweibasischer Säuren durch Schimmelpilze. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 7. 1939. S. 787—795.) [Russisch.]

Bei Versuchen mit dem Schimmelpilz Penicillium sp. Ad_1, bei welchem $(NH_4)_2HPO_4$ als Stickstoffquelle und $CH_2(COOH)_2$, $(CH_2)_3(COOH)_2$, $(CH_2)_4(COOH)_2$, $(CH_2)_6(COOH)_2$, $(CH_2)_7(COOH)_2$ und $(CH_2)_8(COOH)_2$ als Kohlenstoffquelle dienten, wurde festgestellt, daß der Koeffizient der Energieverwertung bei den aufgezählten Säuren sich mit ihrem Molekulargewicht verringert, bzw. bei den drei letztangeführten Säuren fast unverändert bleibt. Dies bestätigt die Ansicht, daß heterotrophe Organismen die Karboxylgruppe nicht zu reduzieren vermögen; eine Ausnahme davon macht nur die Malonsäure, was sich durch die Besonderheit der Struktur ihrer Kohlenstoffkette erklären läßt. *M. Gordienko (Berlin).*

Tausson, W. O., Umwandlung der Energie durch Mikroorganismen. XII. Über die Energetik des Atmungsprozesses bei Schimmelpilzen. (Mikrobiologie. Bd. 8, Folge 9/10. 1939. S. 1043—1061.) [Russisch.]

Die Arbeit berichtet über die Ergebnisse weiterer Versuche mit Penicillium sp. Ad_1, auf denselben Substraten und unter denselben Bedingungen wie in der vorhergehenden Arbeit. Bei Zusammenstellung der energetischen Äquivalente der bei der völligen Verbrennung von untersuchten Säuren freiwerdenden Kohlensäure und der Koeffiziente der Energie- und Kohlenstoffverwertung durch Penicillium sp. Ad_1 ergibt sich, daß zwischen diesen Größen kein direkter Zusammenhang besteht. Auf Grund dessen, sowie auf Grund von weiteren experimentellen Ergebnissen wird die Vermutung ausgesprochen, daß die Synthese der Zellstoffe keinen endothermischen, sondern einen exothermischen Prozeß darstellt. Es werden Schemata der exothermischen Umwandlung der untersuchten Säuren durch heterotrophe Organismen aufgestellt. Diese erwiesen sich als sehr nahe den auf experimentellem Wege gefundenen. Auch findet vom Standpunkte des exothermischen Prozesses leicht die Tatsache ihre Erklärung, daß Malonsäure einen sehr niedrigen Koeffizienten der Energieverwertung ergibt. *M. Gordienko (Berlin).*

Proskurjakow, N. I. und Ossipow, F. M., Enzymatische Spaltung der Pektine durch Schimmelpilze. (Biochemie. Bd. 4, Nr. 1. 1939. S. 50—59.) [Russisch.]

Es wurde die Wirkung pektolytischer Fermente der Schimmelpilze auf verschiedene Pektinpräparate untersucht, indem man die pektolytische Akti-

vität an Wasserauszügen der Myzelien dieser Pilze prüfte. Die stärkste Wirkung zeigte Aspergillus oryzae, sodann Botrytis cinerea; Rhizopus n. und Sclerotinia fr. zeigten nur geringe Aktivität. Die pektolytische Aktivität der Wasserauszüge war für verschiedene Pektinpräparate verschieden. Mit Erhöhung der proteolytischen Aktivität der Auszüge setzte sich der p_H-Wert der Lösungen herab.

M. Gordienko (Berlin).

Born, H. J., Lang, A., Schramm, G. und Zimmer, K. G., Versuche zur Markierung von Tabakmosaikvirus mit Radiophosphor. (Die Naturwissensch. Jg. 29. 1941. S. 222—223.)

Auf biologischem Wege durch Ernährung der kranken Pflanzen mit radioaktivem Phosphor wurde dieser in das Virusprotein eingebaut. Die Untersuchung des gereinigten Virus mit dem Zählrohr ergab eine hohe Aktivität, so daß nunmehr die Möglichkeit besteht, den chemischen Aufbau des Virusproteins und seine Beziehungen zum Stoffwechsel der Wirtspflanze genauer zu verfolgen. Solche Untersuchungen sind eingeleitet.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Ruska, H., Über ein neues bei der bakteriophagen Lyse auftretendes Formelement. (Die Naturwissensch. Jg. 29. 1941. S. 367—368.)

Bei der elektronenoptischen Verfolgung der bakteriophagen Lyse wurde eine überraschende Feststellung gemacht: In Kulturen von Streptokokken, Enterokokken, Staphylokokken, Proteus-, Ruhr- und Colibakterien, die der Einwirkung homologer Phagenstämme ausgesetzt waren, wurde ein Gebilde entdeckt, das in seiner Form etwa an Spermien oder sporentragende Plectridien erinnert. Der kopfige Teil besteht aus einem oder auch aus zwei massendichteren Partikeln, an welchen der dünne Fortsatz hängt. Die Gesamtlänge beträgt etwa 250—400 mμ, die Dicke des „Kopfes" etwa 60—100 mμ und diejenige des Fortsatzes etwa 20 mμ, die also ungefähr der Dicke einer Bakteriengeißel entspricht. Hinsichtlich der Gliederung des „Kopfes" und der Ausbildung des Fortsatzes bestehen gewisse Unterschiede zwischen den Gebilden der verschiedenen Bakterien-Phagen-Kulturen.

Ob es sich bei diesem neuen Formelement, das bisher nur in Bakteriophagen-Kulturen beobachtet werden konnte, um den Phagen selbst handelt oder um ein Gebilde der Bakterienzelle, soll durch weitere Untersuchungen entschieden werden. Im ersteren Falle würde die D'Hérellsche Hypothese wieder an Wahrscheinlichkeit gewinnen, wonach es sich bei den Phagen um organisierte Gebilde handelt.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Lodenkämper, H. und Ballies, W., Über Lebensmittelvergiftungen besonders durch Proteus. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 126. 1941. S. 43—57.)

Die Beteiligung der Proteusbakterien an Lebensmittelvergiftungen wird seit langer Zeit vermutet, doch konnte bisher die Toxinbildung nicht einwandfrei festgestellt werden. Erst Verff. und, unabhängig von ihnen, Bachmann und Mielke gelang der Nachweis von Endotoxinen. Es wird

vermutet, daß diese durch den Verdauungsprozeß frei werden. Ektotoxine waren bei keinem der 120 untersuchten Stämme feststellbar. Im übrigen scheint die Toxinbildung — wie auch bei Colibakterien — nur zeitweise und in sehr wechselndem Grade stattzufinden im Gefolge von noch unbekannten Umständen. Erkrankungen kommen besonders nach dem Genuß stark infizierter Fleisch- und Fischspeisen vor. Zur Verhütung kommen nur hygienische Maßnahmen in Frage, insbesondere die Fliegenbekämpfung. Im Sommer sollte die Herstellung von längeren Würsten untersagt werden, um nachträgliche Infektionen nach dem Anschnitt nach Möglichkeit zu verhindern. Auch wäre bei der Wurstherstellung völliger Ersatz des tierischen Darmes durch den künstlichen empfehlenswert. *Rodenkirchen (Dresden).*

Arnaudi, C., Neue Gesichtspunkte in Theorie und Praxis der Gärfutterbereitung. (Intern. Landw. Rundschau III. Jahrg. 31. 1940. S. 397—408.)

Auf Grund von Modellversuchen im Laboratorium, die anscheinend nicht durch Versuche unter praktischen Bedingungen ergänzt wurden, werden als typische Erreger der Kaltgärfutterbereitung Streptobact. plantarum und ein zur Gattung „Lactobacillus" gerechnetes Bact. pentoaceticum angesehen. Auf frisch geernteten Pflanzen wurden sie in einer Menge von 1200—23 000 je Gramm Pflanzenmaterial festgestellt. Es handelte sich dabei um Gramineen und Leguminosen, die keinen grundsätzlichen Unterschied in der Zahl dieser Organismen zeigten. Die Gärkraft der isolierten Keime kam am stärksten gegenüber pflanzlichen Pentosen zum Ausdruck; Laktose wurde praktisch nicht angegriffen. Bereits 2 Tage nach der Beschickung der Gärbehälter war die Zahl der Säurebildner auf 50—100 Millionen je Gramm Futtermasse angestiegen, nach 10 Tagen auf 600 Millionen bis 1 Milliarde. Auch ohne Zuckerzusatz erreichte Leguminosengärfutter ein p_H von 4,0. Als ausreichend wird die Säuerung bei rein biologischer Gärung angesehen, wenn der p_H-Wert auf 4,4—4,0 sinkt (beim A.I.V.-Verfahren dagegen liegt der obere Grenzwert bei p_H 3,8). Bei guter Zerkleinerung des Materials und bei sorgfältigem Pressen (mit mindestens 4—5 dz je Quadratmeter) nach dem möglichst in einem Arbeitsgang (längstens in 2 aufeinanderfolgenden Tagen) vorgenommenen Einfüllen in den Behälter soll infolge des starken Austrittes von Saft, der für Säurebildner geradezu als Selektivnährboden angesehen wird, Zuckerzusatz für das Gelingen der Silage nicht unbedingt erforderlich sein. Es wird jedoch nicht berücksichtigt, daß im Kleinversuch andere Bedingungen herrschen als im praktischen Großversuch, in dem sich die Einsäuerung von Leguminosen ohne Zusatz als viel zu unsicher erwiesen hat.

Bei günstigen klimatischen Verhältnissen, die starkes Anwelken des Futters gestatten, wird ein von Prof. Samarani eingeführtes Verfahren empfohlen. Dieses sog. Cremasker Verfahren benutzt zur Konservierung in besonderem Umfang die bei der Atmung des Futters freiwerdende Kohlensäure. Das Futter wird in den Behälter gebracht, nachdem der Feuchtigkeitsgehalt auf unter 50% gesunken ist. Durch ein besonderes Verschlußsystem soll möglichst viel Kohlensäure zurückgehalten werden. Erhitzung unterbleibt infolge des niedrigen Wassergehaltes des Futters. Auch die Mikroorganismentätigkeit soll fast ausgeschaltet sein. Die Nährstoffverluste bleiben dadurch in sehr engen Grenzen. *Rodenkirchen (Dresden).*

Burkhardt, E., Einsäuerung von eiweißreichem Grünfutter unter Zusatz von eingesäuerten Kartoffeln. (Landw. Jahrb. Bd. 90. 1940. S. 793—820.)

Da die Gefahr besteht, daß Mineralsäuresilage auf die Dauer den Tierkörper nachteilig beeinflußt, wurde geprüft, ob und inwieweit sich Mineralsäuren durch natürlich gesäuerte Zusätze ersetzen lassen. Zu diesem Zwecke wurden Einsäuerungsversuche mit schwer ensilierbarem Futter (Landsberger Gemenge, Luzerne, Weidegras) in kleinen Gärbehältern von annähernd 0,5 cbm Inhalt und in 2 l-Glasgefäßen durchgeführt. Das Futter wurde mit 5—50% Kartoffeln vermischt, die vor über 2½ Jahren eingesäuert worden waren. Dieser Zusatz bewirkte eine erhebliche Verringerung der Sickersaftbildung und schränkte dadurch den Verlust an Rohnährstoffen merklich ein. Auch im Gärfutter selbst wurden infolge Hemmung der Gärungskohlensäure die Verluste an N-freien Extraktstoffen wesentlich herabgesetzt. Dazu kam, daß das Gärfutter eine deutliche Qualitätsverbesserung erfuhr. Allerdings vermochten selbst die höchsten Zusätze die Buttersäuregärung nicht restlos zu unterdrücken, auf die Essigsäurebildung hatten sie praktisch überhaupt keinen Einfluß. Diese relativ geringe Wirkung des Kartoffelzusatzes ist jedoch nicht sehr überraschend, da die zugeführte Säuremenge in ziemlich engen Grenzen liegt und die noch unvergorene Kohlehydratmenge wegen der langen Gärdauer nur sehr gering gewesen sein kann. Auf Grund von Versuchsergebnissen nach Verwendung von frisch gedämpften unvergorenen Kartoffeln wird die Milchsäuremenge des zugesetzten vergorenen Materials sogar als völlig bedeutungslos angesehen. Werden die Kartoffeln unvergoren verwendet, so besteht bei starker Verschmutzung andererseits die Gefahr, daß neben der Milchsäuregärung Fäulnisprozesse in größerem Umfang vor sich gehen. *Rodenkirchen (Dresden).*

Lüdecke, H., Die Bedeutung der Phosphorsäure für das Wachstum der Sojabohne und die Tätigkeit ihrer Knöllchenbakterien. (Phosphorsäure. Bd. 10. 1941. S. 196—204.)

Während die Wurzelmasse der Sojabohne durch steigende Gaben von Phosphorsäure keine nennenswerte Zunahme erfuhr, erhöhten sich die Zahl und das Gewicht der Knöllchen entsprechend der Düngung. Die Steigerung der Phosphorsäuredüngung um das 10fache führte zu einer knapp 10fachen Vermehrung der Knöllchenzahl und zu einem 15fachen Anstieg des Gewichts. Weiter ergab sich, daß der prozentuale P_2O_5-Gehalt der Knöllchen einen merklichen Anstieg von 0,60 auf 0,88 erfahren hatte. Am bedeutsamsten aber ist die Feststellung, daß die Leistung der Knöllchen bezüglich ihres Stickstoff-Bindungsvermögens nicht nur absolut, sondern auch relativ gewaltig zunahm. Die insgesamt assimilierte Stickstoffmenge stieg (bei P_2O_5-Steigerung von 1 auf 10) auf reichlich das 40fache, die je Knöllchen gebundene Stickstoffmenge um das 3fache. Das Stickstoff-Bindungsvermögen der Knöllchen ist also abhängig von deren P_2O_5-Gehalt. *Rodenkirchen (Dresden).*

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

West, P. M., and Lochhead, A. G., The nutritional requirements of soil bacteria. — A basis for determining the bacterial equilibrium of soils. (Soil Science. Vol. 50. 1940. p. 409—420.)

Verff. teilen die Bodenbakterien in 10 verschiedene Gruppen ein, in

erster Linie darnach, ob sie in einem einfachen Glukose-Nitrat-Mineralsalz-Nährmedium wachsen oder bestimmte zusätzliche Nährstoffe organischer Art benötigen. Außerdem findet bei dieser Einteilung noch die Gramfestigkeit Berücksichtigung. Die beiden Hauptgruppen der in dem einfachen Grundsubstrat gut gedeihenden und der anspruchsvolleren Bakterien stehen in jedem Boden miteinander im Gleichgewicht, das durch allerlei Einflüsse nach der einen oder anderen Seite verschoben werden kann. Von solchen Einwirkungen werden zwei untersucht, nämlich die Jahreszeit und der Pflanzenbestand. Dabei konnten ganz charakteristische Verschiebungen des Gleichgewichts festgestellt werden. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Waksman, S. A., and **Woodruff, H. B.**, Survival of bacteria added to soil and the resultant modification of soil population. (Soil Science. Vol. 50. 1940. p. 421—427.)

In Übereinstimmung mit der längst bekannten Tatsache, daß es zur Ansiedlung bestimmter Mikroorganismen in einem Boden durchaus nicht immer genügt, diesen mit den neuen Mikroben zu beimpfen, wurde bei Nachforschungen nach den in den Boden eingebrachten Mikroorganismen das rasche Aussterben derselben festgestellt. Gleichzeitig vermehrten sich die bodenständigen Bakterien und Aktinomyceten. Bei nochmaliger Zugabe der bodenfremden Kulturen starben diese noch schneller. Das führte zu der Annahme, daß antagonistische Mikroorganismen die künstlich eingeführten Bakterien vernichten. Die Art dieser Antagonisten, von denen verschiedene isoliert werden konnten, richtete sich nach der Art der zugeführten Mikroben, nach der Bodenbehandlung sowie nach der Bebrütungstemperatur. Filtrate der Antagonisten-Kulturen waren ebenfalls wirksam, gegen Pilze nur schwach, gegen Bakterien zum Teil sehr stark. Am stärksten wachstumshemmend und bakterientötend erwies sich das Filtrat eines Actinomyces, dessen wirksame Substanz als Actinomycin bezeichnet wird.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Sekera, F., Der Mikrodüngungsversuch zur Bestimmung des Nährstoffgehaltes und der Düngerwirkung des Bodens. (Phosphorsäure. Bd. 10. 1941. S. 229—246.)

Durch Abänderung des vom Verf. bisher nach dem Schema P-PK-K angelegten Nährstoffmangelversuchse in P-PK-pK, d. h. auch die P-Mangelkultur (die K-Lösung) erhält jetzt eine geringe P-Gabe ($^1/_{10}$ der vollen Gabe), geben die relativen Aspergillus-Myzelgewichte der Mangelernten (PK-Ernte = 100) nicht nur Aufschluß über die Düngerwirkung und damit über den Düngerbedarf, sondern in gewissem Umfang (Grenzwerte) über den Nährstoffgehalt. Bei der niedrigen P-Gabe hängt die Düngerwirkung in erster Linie vom Grade der Festlegung durch den Boden ab; mangelhafte Düngerwirkung beruht entweder auf ausreichendem Nährstoffvorrat im Boden oder auf starker Festlegung des P. Durch die starke P-Gabe wird die Festlegung überbrückt. Die Volldüngung ergibt also die erzielbare Höchsternte, so daß aus der relativen Ernte der Mangelkulturen auf den nutzbaren Nährstoffgehalt des Bodens geschlossen werden kann.

In Vergleichsuntersuchungen an 76 Böden betrug die Übereinstimmung mit der Mitscherlich-Methode bei K 89% (1,3% grobe Abweichungen), bei P 85,5%, gegenüber der Neubauer-Methode beliefen sich die Werte auf 86% (2,8% grobe Abweichungen) bei K, auf 81% (5,4%) bei P.

Einzelheiten über Versuchsanstellung, Fehlermöglichkeiten, Auswertung der Ergebnisse müssen im Original eingesehen werden.

Rodenkirchen (Dresden).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Bremer, H., Beobachtungen quantitativer Art über das Auftreten von Schäden an Gemüsepflanzen auf dem Versuchsfelde der Zweigstelle Aschersleben der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft während der Jahre 1929—1935. 1. bis 3. Mitt. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 50. 1940. S. 71—84, 402—412, 577—595.)

In der 1. Mitteilung werden neben den Angaben über den Witterungsverlauf (Temperatur und Niederschläge) auf dem Versuchsfelde in Aschersleben und denen über die durchschnittliche Abweichung der Temperatur und Niederschläge von der Norm in der Wetterstation Magdeburg die Beobachtungen über das Auftreten von Kohlkrankheiten zusammengefaßt. Dabei finden Kohlhernie, Kohlfliege, Kohlweißling, Kohlschabe und Kohlerdfloh Erwähnung.

In der 2. Mitteilung wird über Schäden an Spargel und Möhren berichtet. Es werden Spargelrost, Spargelfliege, Spargelkäfer, Möhrenfliege und Möhrenblattfloh genannt. Bei den Insekten wurde hinsichtlich ihres ersten Auftretens eine deutliche Abhängigkeit vom Frühjahrswetter beobachtet. Der Möhrenfliegenbefall wurde auch in Aussaatzeitversuchen kontrolliert. Es zeigte sich, daß die im Juni ausgesäten Möhren einen stärkeren Befall aufwiesen als die früheren oder späteren Aussaaten.

Die 3. Mitteilung befaßt sich mit den Schäden an Erbsen und Gurken. Die durch Ascochyta pisi hervorgerufene Krankheit besteht hauptsächlich in einer Keimschädigung. Ein wirtschaftlich bedeutender Hülsenbefall konnte nicht beobachtet werden. Hinsichtlich des Rost- und Mehltaubefalles wurde in Aussaatzeitversuchen die bekannte Tatsache der jahreszeitlichen Bedingtheit des Auftretens nachgewiesen. Eine Abhängigkeit von Witterungseinflüssen trat nicht hervor. Außer diesen Krankheiten werden Erbsenblattrandkäfer (Sitona lineata L.) und Erbsenwickler erwähnt. Von den Gurkenkrankheiten trat der Mehltau (Erysiphe cichoriacearum DC.) erst dann stärker in Erscheinung, wenn eine Regenperiode nach Erreichung einer bestimmten Belaubungsstärke der Pflanzen einsetzte. Durch die Krätze (Cladosporium cucumerinum Ell. et Arth.) wurden die Gurken auf den mit Stallmist gedüngten Parzellen stärker geschädigt als auf den ungedüngten. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Faes, H. und Staehelin, M., Über die rasch abtrocknende Wirkung des Kupferkalkbelages der bespritzten Rebblätter nach Regen, Nebel oder Tau. (Schweiz. Ztschr. Obst- u. Weinbau. Bd. 50. 1941. S. 204—213.)

Verff. machen darauf aufmerksam, daß Regen- und Tautröpfchen auf Rebblättern, die mit einer stärker mit Kalkbrühe abgesättigten Kupferkalkbrühe bespritzt sind, rascher verdunsten als auf einem unbespritzten Blatt. Schon von verschiedenen Forschern wurde die gleiche Beobachtung gemacht. Gard hält den Kupferkalkbelag für eine poröse Masse, welche das Regenwasser aufsaugt und zugleich die Verdunstung durch Vergrößerung der Oberfläche beschleunigt. Nach Capus halten die alkalischen Kupferkalkbrühen

in niederschlagsreichen Jahren genügend Kupferreserven zurück, auch wenn man den Kupfergehalt der Brühen verringert. Bei neutralen und saueren Brühen ist das nicht der Fall. Verff. stellten Versuche mit Glasplatten an, die mit verschieden zubereiteter Kupferkalkbrühe bespritzt und dann getrocknet wurden. Die Platten wurden dann einem künstlichen Sprühregen ausgesetzt und die Zeit bestimmt, welche bis zum vollständigen Trocknen verging. Dabei zeigte sich, daß die mit Kupferkalkbrühe behandelten Platten in viel kürzerer Zeit trockneten als unbehandelte Platten. Wird der Kupferkalkbrühe Kasein zugesetzt, so trocknet der Belag noch schneller. Ähnliche Versuche wurden auch in Versuchsparzellen mit Reben durchgeführt. Die alkalische Kupferkalkbrühe (3 kg $CuSO_4$, 3 kg Kalkhydrat) trocknete am raschesten ab, z. B. in 1,46 Std. gegenüber 2,06 Std. bei gewöhnlicher Kupferkalkbrühe. Verff. möchten nun aus diesem Versuchsergebnis den Schluß ziehen, daß bei Verwendung alkalischer Brühen die Blätter in kürzerer Zeit abtrocknen als die Infektionsdauer der Peronospora-Konidien beträgt, die nach den Untersuchungen von Müller und seinen Mitarbeitern im Optimum 1½—2 Std., gewöhnlich aber etwas längere Zeit in Anspruch nimmt. Verff. glauben die mit 3proz. Brühen gewonnenen Ergebnisse ohne weiteres auf 1proz. Brühen, die infolge der Kupferverknappung heutzutage erforderlich sind, übertragen zu können. Ob dieser Schluß zulässig ist, bedarf allerdings noch der experimentellen Prüfung. Jedenfalls ist in Deutschland längst bekannt, daß man mit 1proz. Kupferkalkbrühen (1 kg $CuSO_4$, 1 kg Kalkhydrat) die Peronospora wirksam bekämpfen kann. Die schweizer Winzer können sich deshalb risikolos dieser Erkenntnis anschließen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und Viren.

Osterwalder, A., Eine oder zwei Bespritzungen vor der Rebblüte? (Schweiz. Ztschr. Obst- u. Weinbau. Bd. 50. 1941. S. 265 bis 269.)

Verf. vertritt die Auffassung, eine Bespritzung genüge für die schweizerischen Weinbaugebiete vor der Rebblüte, da die Peronospora seit einer Reihe von Jahren schwächer auftrete. Für manche niederschlagsarme Gebiete, mit weniger empfindlichen Rebsorten, ist das möglich. Für die schweizerischen Weinbaugebiete, mit reichlichen Niederschlägen, ist diese Empfehlung aber zu riskant. Infolgedessen haben auch die für den Rebenschutz verantwortlichen Stellen in der Schweiz immer ein zweimaliges Bespritzen empfohlen. Auch für das Jahr 1941 ist die erste Bespritzung in der Schweiz, bei der diesjährigen verspäteten Rebentwicklung für die Zeit vom 9.—14. Juni anempfohlen worden. Eine zweite wird deshalb, entgegen der Ansicht des Verf.s, vor der Rebblüte erfolgen müssen, da die Rebblüte dieses Jahr erst anfangs Juli eintreten wird und man die Reben in dieser Zeit des größten Wachstums nicht länger als 14 Tage ungespritzt lassen kann. Wenn man an Kupfer sparen muß, kann das durch Verwendung niederprozentiger Brühen geschehen. *K. Müller (Freiburg i. Br.).*

Pollinger, Th., Ursachen und Bekämpfung der Abbaukrankheiten der Kartoffel. (Die Phosphorsäure. Bd. 10. 1941. S. 53—66.)

Für die Bekämpfung der Kartoffelabbaukrankheiten ist, außer der Verhütung der direkten Infektion sowie entsprechenden Pflegemaßnahmen, eine

hinreichende Versorgung mit Phosphorsäure von größter Wichtigkeit. Unzulängliche Phosphorsäure-Gaben vermindern den biologischen Wert der Pflanzknollen und damit die Resistenz gegenüber Abbaukrankheiten. Bei der Höhe der Düngergaben ist vor allem der Nährstoffgehalt des Bodens zu berücksichtigen. Jede Storung des angemessenen Mengenverhältnisses zwischen Phosphorsäure, Kali und Stickstoff verzögert den Eintritt der Erntereife. Das macht besonders starke Phosphorsäuregaben, vor allem für späte Kartoffelsorten, notwendig. *Rodenkirchen (Dresden).*

Kovaschevsky, Iv. Chr., Die Reisigkrankheit der Paprikapflanze (Capsicum annuum). (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 50. 1940. S. 298—308.)

Diese in allen Paprika-bauenden Ländern verbreitete Krankheit äußert sich in einer Blattanhäufung in den Scheitelteilen und in einer Blatt- und Fruchtdeformation. Auch treten mosaikartige Verfärbungen oder unregelmäßige Flecke auf, die von nekrotischen Streifen umgeben sind. Der Fruchtansatz kranker Pflanzen ist gering, bei starkem Befall kommen Ertragsminderungen bis zu 90% vor. Als Erreger wurde das Gurkenmosaik nachgewiesen. Durch Abreibungen ließ sich dieses Virus von Tabak auf Paprika, dagegen nicht von Paprika auf Paprika übertragen. Durch Myzus persicae gelang jedoch die direkte Übertragung ebenfalls.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Moericke, V. und Winter, H., Eine Virose des Blumenkohls in Deutschland. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 50. 1940. S. 172—177.)

Im Sommer 1938 wurde in der Kölner Bucht erstmalig eine Virose an Blumenkohl beobachtet, die wahrscheinlich mit dem von Tompkins 1934 beschriebenen „cauliflower mosaic virus“ identisch ist. Das Schadbild ist nicht einheitlich. Neben einer Aufhellung der Blattadern oder der Bildung mehr oder weniger breiter chlorotischer Bänder längs der Nerven traten auch Randnekrosen und Wachstumsstörungen auf. Eine Ertragsminderung trat nur bei Pflanzen ein, die die letztgenannte Erscheinung aufwiesen. Als Virusüberträger kommen wahrscheinlich Brachycolus brassicae L. und Myzodes persicae Sulzer in Betracht. Künstliche Übertragung durch Blattabreibungen gelang bei zahlreichen Sorten von Blumen-, Weiß-, Rot- und Rosenkohl. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Tierische Schädlinge.

Menzel, R., Criconema rusticum Micoletzky und das Vorkommen dieser Nematoden an den Wurzeln von Weinreben. (Verhandl. Schweiz. Naturforsch. Gesellsch. Locarno. 1940. S. 180.)

Criconema rusticum scheint an den Wurzeln von Weinreben in den Kantonen Baselland und Tessin weit verbreitet zu sein. Sie tritt, oft mit Phylloxera vergesellschaftet, besonders an den Direktträgerwurzeln auf. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Goidanich, G., L'anguillulosi del l'ortensia. (Boll. R. Staz. Pat. veg. Roma. Bd. 19. 1939. S. 1—10 [Sonderdruck].)

Die Hortensie gehört zu denjenigen Pflanzen, die von Anguillulina dipsaci stark geschädigt werden können. Befallene Triebe sind deutlich

gedreht und verdickt. Die Blätter bleiben im Wuchs zurück. Auch die Hauptnervenstränge sind angeschwollen. Das Blühen erfolgt unregelmäßig oder kann ganz unterbleiben. Auf der Oberfläche der Stengel zeigen sich mehr oder weniger große bräunliche Flecke, die später einsinken. Im Querschnitt machen sich eine starke Hypertrophie des Rindenparenchyms und nekrotische Erscheinungen geltend. Sorten mit fleischigem Gewebe scheinen von den Älchen bevorzugt zu werden. Als widerstandsfähig hat sich die Sorte „La Molière“ erwiesen. Die Bekämpfung erfolgt am besten nach dem von Schuurmans-Stekhoven erprobten Verfahren, indem die erkrankten Pflanzen im Gewächshaus eine Woche lang einer Temperatur von 35—37° C ausgesetzt werden. Die Mehrzahl der braunen Blätter fällt dann ab, während die grünen Blätter anscheinend keine Älchen enthalten.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Blaszyk, P., Zur Frage des Fangwertes der gebräuchlichsten Fanggürtel bei der Obstmadenbekämpfung. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 43—46.)

Fanggürtel aus Sackleinen und zusammengedrehtem Stroh brachten ein wesentlich schlechteres Ergebnis als Gürtel aus Wellpappe, da sich viele Obstmaden am Stamm zwischen Rindenschuppen usw. verpuppten. Die im Handel befindlichen Fanggürtel scheinen im allgemeinen keine allzu großen Fangunterschiede zu geben. Selbst die einfachsten und billigsten Gürtel standen hinter den teueren nicht zurück. Bis zu 92% der Obstmaden haben die Fanggürtel selbst zum Verpuppen benutzt. Nur bei einer Sorte Gürtel hatte sich ein beträchtlicher Teil der Maden zwischen dem inneren Schutzpapier und dem Stamm versponnen. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Pustet, A., Die Bekämpfung der Bisamratte im Jahre 1939/40. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 25—31.)

Der Bericht zeichnet die Schwierigkeiten auf, die der Bekämpfung des Schädlings durch Hochwasser, strengen Frost mit zahlreichen Schneefällen und Verwehungen sowie durch die Kriegsereignisse entgegenstanden. Erwähnt sei, daß die Bisamratte am Oberrhein erneut vorzudringen versuchte. Besiedelt sind die Kreise Freiburg, Lörrach und Müllheim. Die neu hinzugekommenen Gaue der Ostmark können als Hinterland der Abwehrfront angesehen werden, obwohl der Schädling im Gau Tirol bereits bis in den Oberlauf des Inn nachgerückt ist. Im Süden hat er sich bis in die Täler der Zentralalpen vorgearbeitet. Längs der Donau wurde Wien und die Reichsgrenze überschritten. In den wiedergewonnenen schlesischen Kreisen konnte der Kampf mit gutem Erfolg aufgenommen werden. Auch der Sudetengau wurde in die Abwehr miteinbezogen. Im Altreich beschränkte sich die Bekämpfung auf die jeweils wichtigsten Aufgaben. Größere Rückschläge konnten hier vermieden werden. Die Gesamtzahl der im Altreich erbeuteten Tiere betrug 7035 gegenüber 10 353 im Berichtsjahre 1938/39. Hinzu kommen noch 733 Tiere, die im Sudentengau von amtlicher Seite erlegt worden sind.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Greis, H., Beiträge zur Biologie und Bekämpfung des Rübennematoden Heterodera Schachtii (Schmidt). (Ztschr. Wirtschaftsgruppe Zuckerindustrie. Bd. 91. 1941. S. 4—19.)

Nach mehreren Versuchen des Verf.s, die im Gewächshaus und im Freiland mit Nematodenzysten der Magdeburger Börde durchgeführt wurden, sind Zuckerrüben, Raps, Kohl und verwandte Pflanzen sowie auffallenderweise weiße Lupinen anfällig. Getreide blieb in allen Fällen unberührt. Hinsichtlich der Anwendung des Kühnschen Fangpflanzenverfahrens ist es wichtig, zu wissen, daß etwa 7 Tage nach dem Eintritt der Geschlechtsreife bereits ein erheblicher Prozentsatz der befruchteten Weibchen eine Notreife an den abgetöteten, aber noch im Boden befindlichen Wurzeln eingehen und normale, lebensfähige Larven hervorbringen kann. Sind die Wurzeln jedoch an die Bodenoberfläche gebracht, geht der größte Teil infolge Austrocknens zugrunde. Nur wenn die Entwicklung fast völlig abgeschlossen ist, kann es noch zur Notreife kommen. Da die Entwicklungsdauer nach den jeweiligen Temperaturbedingungen verschieden ist, muß man bei Anwendung des Fangpflanzenverfahrens in jedem Gebiet zunächst die Dauer der Entwicklung des Nematoden ermitteln. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Maercks, H., Über die Wirkung von Kleieködern und Mineraldüngemitteln auf die Larven der Sumpfschnake (Tipula paludosa Meig.). (Arb. phys. u. angew. Entomol. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 101—112.)

Versuche mit Urania-Weizenkleie im Mischungsverhältnis 1 : 25 zeigten, daß die Wirksamkeit des Giftköders mit zunehmendem Alter der Larven nachläßt. Während bei den Stadien I und II 89—90% Abtötung erzielt wurde, ging der Prozentsatz beim 3. Stadium auf 67, beim 4. Stadium auf 23—26 zurück. Um eine befriedigende Wirkung auch bei diesem letzten Stadium zu erreichen, mußte das Mischungsverhältnis auf 1 : 5 erhöht werden. Fluornatrium hatte selbst in diesem Mengenverhältnis bei Larven des dritten Stadiums nur geringe Wirkung. Kieselfluornatrium versagte gegen die Larven dieses Stadiums im Mischungsverhältnis 1 : 25, während es im Verhältnis 1 : 5 Larven des 4. Stadiums zu 75% abtötete. Günstige Erfolge wurden mit dem fluorhaltigen Fertigpräparat „Pertipan“ gegen alle Larvenstadien erzielt. Ihm kam in der Wirkung Kieselfluorbarium-Kleieköder im Verhältnis 1 : 5 gleich, während Kryolith unbefriedigend blieb. Mit Hederich-Kainit (15 dz/ha) und ungeöltem Kalkstickstoff (2,5 dz/ha) wurden 68 bzw. 64% der Eier abgetötet. Gegen erste Larvenstadien wurde mit ungeöltem Kalkstickstoff (2 und 3 dz/ha) eine Abtötung von 100% erzielt, während Hederich-Kainit selbst in verstärkten Gaben (15 dz/ha) nur ungenügend wirksam war. Bewährt hat sich dagegen eine Mischung von 6 dz Hederich-Kainit und 1,5 dz Kalkstickstoff. Die Kosten einer Bekämpfung mit Giftkleieköder betragen etwa 6,55 RM. je Hektar, bei Verwendung der vorgenannten Düngermischung jedoch 40,50 RM. Man muß aber berücksichtigen, daß im letztgenannten Falle zugleich auch eine Düngung des Grünlandes erfolgt.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Pape, H., Die Umbraeule (Pyrrhia umbra Hufn.) als Schädling an Gartenlöwenmaul. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. 21. Jahrg. 1941. S. 52—53.)

Die Raupen traten seit 1926 alljährlich mehr oder weniger zahlreich auf. Sie nagten in die Wand der noch unreifen Samenkapseln meist von der Seite her ein 3—4 mm rundes Loch. Der Blattfraß ist unbedeutend.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Wiesmann, R., Untersuchungen über die Zeitpunkte der Winterbespritzung. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Bd. 50. 1941. S. 237—246.)

Verf., dem wir schon eine Reihe beachtenswerter Arbeiten über Obstschädlinge verdanken, hat in exakten Versuchen die ovizide Wirkung des Obstbaumkarbolineums, die Änderung der Empfindlichkeit der Eier im Laufe des Winters und den Zeitpunkt der größten Wirkung des Obstbaumkarbolineums zur Winterbespritzung geklärt. Zu den Versuchen wurden Frostspannereier verwendet. Die Teerölfraktionen wurden 5proz. angewandt, und zwar jeweils getrennt nach Leichtöl 150—170°, Leichtöl-Mittelöl 170—200°, Mittelöl 200—230°, Mittelöl-Schweröl 230—250°, Schweröl 250—270°, Anthrazenöl über 270°. Dazu kamen zwei fertige anthrazenölhaltige Obstbaumkarbolineen des Handels. Die Bespritzung der Eier erfolgte alle 14 Tage vom 1. Dezember bis 30. März. Dabei ergab sich folgendes: Leichtöle und Mittelöle weisen keine ovizide Wirkung auf, sowohl bei früher wie später Anwendung. Bei Schwerölen erreicht die Wirkung bereits 90%, aber erst Anthrazenöl-Emulsionen liefern einen vollen Erfolg. Die früheren Obstbaumkarbolineen waren Mischungen von Leicht-, Mittel- und Schwerölen, sie hatten darum keine Wirkung. Mit der Verwendung anthrazenölhaltiger Obstbaumkarbolineen zeigten sich erst die Erfolge. Die Anthrazenölversuche brachten aber ein unerwartetes Ergebnis: Kurz vor Knospenausbruch von Mitte März ab nimmt der Erfolg der Spritzung rasch ab. Verf. erblickt die Wirkung des Anthrazenöls in der Hauptsache in einem Luftundurchlässigmachen des Chorions des Eies. Kurz vor dem Austrieb der Apfelbäume hat das Ei schon einen Luftvorrat durch die Mikropyle aufgenommen und wird darum durch die Anthazenölbespritzung nicht mehr erstickt. Für die Praxis ergibt sich aus diesen wichtigen Versuchen, daß die Frostspannerbekämpfung mit anthrazenölhaltigem Obstbaumkarbolineum in den Monaten Dezember bis Februar ausgeführt werden muß, weil kurz vor dem Austrieb die Wirkung stark nachläßt. Da zur Erzielung einer möglichst anhaltenden Wirkung der Schorfbekämpfung mit Kupfermitteln während des Winters eine Behandlung unmittelbar vor dem Austrieb empfohlen wird, kann eine kombinierte Behandlung mit Obstbaumkarbolineum und Kupfermitteln beim Kernobst nicht mehr in Frage kommen, vielmehr müssen beide Bekämpfungen, um gute Wirkung zu erzielen, in Zukunft getrennt vorgenommen werden. Bei Kirschbäumen kann dagegen kombiniert bekämpft werden, da diese früher als Apfelbäume austreiben und das Frostspannerei zu dieser Zeit das unempfindliche Stadium in der Regel noch nicht erreicht hat.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Steudel, W., Die Maikäferbekämpfung 1940 mit Dinitro-o-kresol im Nußwinkel bei Rathenow. (Arb. physiol. u. angew. Entomol. a. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 1—26.)

Großversuche zur Bekämpfung des Maikäfers wurden hauptsächlich mit staubförmigem Dinitro-o-kresol durchgeführt. Die Schnelligkeit der Giftwirkung war deutlich von der Temperatur abhängig. Maßgeblichen Einfluß auf den Erfolg der Bestäubung, besonders bei freistehenden Bäumen, hatte auch die Windstärke. Die Wirkung wurde meistens einen Tag nach der Behandlung durch Auszählen der toten Käfer ermittelt. Hierbei ergaben sich durchschnittlich 93,9 Käfer je Quadratmeter. Insgesamt wurden auf einer

Fläche von 8 ha 2138 kg Giftstaub ausgebracht. Der erhebliche Verbrauch war durch die Behandlung zahlreicher Einzelbäume bedingt. Auf kleineren Herden kamen auch Spritzbrühen mit einem Gehalt von 0,3% Dinitro-o-kresol zur Anwendung. Etwa 8000 l Spritzbrühe wurden auf 348 große und mittelgroße Bäume ausgebracht. Der insektizide Erfolg betrug hier 29,3 Käfer je Quadratmeter. Dennoch konnten die betreffenden Herde fast völlig getilgt werden. Nachteile des Verfahrens sind: Schwierigkeit der Behandlung hoher Bäume und Abhängigkeit von der Wasserzufuhr. Verbrennungen traten an zweijährigen Fichten auf, die aber neue Triebknospen bildeten. Totalschaden zeigten Lupinen und wahrscheinlich Futterrüben (vor der Feststellung umgepflügt), während zweijährige Kiefernsämlinge durch das Abtreiben des Giftstaubes nicht gelitten hatten. Die Besetzung des Bodens mit Jungengerlingen schwankte zwischen 0,15 und 3,2 Engerlinge je Quadratmeter. Der errechnete Mittelwert von 1,34 Engerlingen je Quadratmeter liegt, auf den ganzen Bezirk bezogen, aber wesentlich niedriger, denn 60,5% aller Kontrollen waren frei von Engerlingen. Außer Larven des Maikäfers wurden auch Engerlinge von Phyllopertha horticola und Anomala sp. häufig gefunden. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Feytaud, J., Das Auftreten und die Bekämpfung des Kartoffelkäfers in Frankreich 1940. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 33—34.) [Deutsche Übersetzung von M. Schwartz.]

Die Zahl der im Herbst 1939 in den Winter gehenden Käfer war wegen des Fehlens entsprechender Spritzbehandlungen recht groß. Infolgedessen traten die Larven im Jahre 1940 im Übermaß auf. Die stärksten Schäden wurden im Departement Saône-et-Loire sowie in der Bretagne und der Normandie beobachtet. Mangel an Arbeitskräften und Schwierigkeiten in der Herbeischaffung der Spritzmittel behinderten die Bekämpfung sehr. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Trappmann, W., Die Frage der Kornkäferbekämpfung mit Quarzmehlen. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 41—42.)

Für die Kornkäferbekämpfung stehen je nach dem Ort des Schadens verschiedene Verfahren zur Verfügung. U. a. wird oftmals auf Quarzmehlpräparate hingewiesen, die als Einstäubemittel dem Lagergetreide zugesetzt werden oder zum Anlegen von Fangstreifen beim regelmäßigen Umschaufeln Verwendung finden. Die Wirkung dieser Präparate beruht auf Wasserentzug. Sie hängt von der relativen Luftfeuchtigkeit und dem Feuchtigkeitsgehalt des Getreides ab. Eine Wirkung auf die Brut des Käfers ist nicht vorhanden. Ebenso wird mit Quarzmehlen behandeltes Getreide vielfach beanstandet, da Hektolitergewicht, Glanz und Griffigkeit leiden. Für den Menschen besteht beim Arbeiten mit diesen Präparaten die Gefahr einer Lungenerkrankung (Silikose). Die Verwendung von Quarzmehlpräparaten in Räumen, die der Getreidelagerung dienen, ist daher verboten. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Miestinger, K., Zur Technik bei Wühlmausbekämpfungsversuchen. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 35—38.)

In der Ostmark werden vor allem 2 Wühlmausarten, die „große Wühlmaus" (Arvicola scherman) und die kurzohrige Erdmaus (Pity-

mys subterraneus subterraneus), den Obstbäumen schädlich. Die Baue beider Wühlmausarten sowie die des Maulwurfs werden besprochen und ihre Unterscheidungsmerkmale dargelegt. Die Durchführung der Versuche und ihre Beurteilung richten sich danach, ob die Baue vergast oder beködert werden. Einzelheiten sind dem Original zu entnehmen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Schulz, H., Beiträge zu einer Prüfung der Bekämpfungsmittel der Milbenseuche der Honigbiene. (Arb. physiol. u. angew. Entomol. a. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 27—35.)

Versuche zur Bekämpfung der durch Acarapis woodi hervorgerufenen Milbenseuche der Honigbiene wurden in Laborversuchen mit folgenden bisher angewandten oder dafür geeignet erscheinenden Mitteln durchgeführt: Frowesches Mittel (2 Teile Nitrobenzol, 2 Teile Benzin, 1 Teil Safrol), Nitrobenzol, Safrol, Benzin, Methylsalicylat, Senföl, Tetrachloräthylen, Paracymol, „Senfölmischung" (bestehend aus 9 Teilen Nitrobenzol, 5 Teilen Paracymol, 1 Teil Senföl, 1 Teil Tetrachloräthylen, 3—5 Teile Benzin) und „Acarmors" (Natriumbisulfit + Magnesiumchlorid). Am wirksamsten zeigte sich Senföl, das noch in einer Verdünnung von 0,000 003% (unverdampfte Flüssigkeit, bezogen auf Luftraum) eine 100proz. Abtötung der Milben in den Tracheen der Bienen brachte. Methylsalicylat wirkte in einer Menge von 0,0004% tödlich. Frowesches Mittel und „Acarmors" scheinen hiergegen wenig wirksam zu sein. Gegen Nitrobenzol, Tetrachloräthylen und Paracymol sind die Bienen anscheinend empfindlicher als die Milben.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Speyer, W., Endopsylla agilis de Meijere (Cecidomyidae) als Entoparasit von Psylla mali Schmidt. (Arb. physiol. u. angew. Entomol. a. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 39—41.)

Durchschnittlich waren etwa 19% der Apfelblattsauger parasitiert. Durch den Befall werden die Weibchen steril. Der Parasit trat auffallenderweise nur in den Obstanlagen der Geest, nicht der Marsch auf.

Goffart (Kiel-Kitzeberg)

Verschiedenes.

Köhler, W., Versuche über die zahlenmäßige Veränderung der natürlichen Bakterienflora in den Verdauungsorganen der Wiederkäuer. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 11. 1940. S. 432—469.)

Die Aufgabe war, die Zahl der Bakterien in den Verdauungsorganen der Wiederkäuer quantitativ zu bestimmen, um hieraus Anhaltspunkte zu gewinnen für die Frage, wie viel an Stickstoff dem Tier durch eine Resorption von Bakterien zufließen könne. Das Zentrifugier- und Filtrationsverfahren ergaben zu hohe Werte, Zählung nach dem Platten- und nach dem Verdünnungsverfahren zu niedrige; nur die direkte mikroskopische Zählung führte zum Ziele. Sie ergab im Pansen des Rindes 13,0, im Dünndarm 1,36, im Dickdarm 12,31 Milliarden Bakterien je 1 g frischer Substanz.

Daraus berechnet sich die Menge von 23,24 g Stickstoff je Tier und Tag = etwa 2 % der notwendigen Menge. Diese errechnete Menge ist indessen infolge verschiedener, nicht erfaßbarer Umstände zu niedrig; z. B. ist darin nicht enthalten die während des Tages erfolgende Vermehrung und Resorption durch Protozoen.

In allen Darmabschnitten ist das Verhältnis der Stäbchen zu den Kokken etwa gleich 1 : 4,5. Die Kokken ließen sich jedoch nur in wenigen Passagen züchten; sie stellen offenbar die spezifische Mikroflora des Darmes der Wiederkäuer dar.

Alle Darmbakterien, Reinkulturen und natürliche Bakteriengemische, besitzen eine hohe Ökonomie der Eiweißbildung. Der Eiweiß-Koeffizient (Menge des auf 100 g verarbeiteten Zuckers gebildeten Eiweißes) betrug aërob 3,1—14, bei streng anaerober Züchtung auffallenderweise ebensoviel (4,1—8,0). Vergleichsweise untersuchter anaërober Zellulosezersetzer hatte einen Eiweiß-Koeffizienten von 7,7.

Aus den Untersuchungen ergaben sich gewisse Gesichtspunkte für die Beurteilung der Frage nach dem Wert einer Amidfütterung bei Wiederkäuern.

Rippel (Göttingen).

Sacharow, B., Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Fokalinfektion im Zusammenhang mit der pathogenen Wirkung von Mundanaerobiern. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1941. S. 359—377.)

Da nach der Einspritzung alter Bakterienkulturen von Mikrokokken (Micr. aureus), Leptothrix, Actinomyces und Anaerobiern (Bact. fusiforme) in das Zahnfleisch von Meerschweinchen bei diesen toxischen Fernwirkungen in Gestalt von Blutungen in den Nebennieren auftraten, ist damit zu rechnen, daß auch die in menschlichen Mundhöhlen vorhandenen fakultativ pathogenen Mikroben, insbesondere die Anaerobier, Quellen von Giftstoffen sein können, die nach Resorption innerhalb der Mundhöhle unter Umständen allergisierend oder als Gifte schädigend wirken.

Rodenkirchen (Dresden).

Volz, E., Nachprüfung der Möglichkeit von nichtbakterieller Stickstoffbindung aus Luftstickstoff durch Koppelung energieliefernder Reaktionen. (Bodenk. u. Pflanzenernährung. Bd. 23. 1941. S. 260—263.)

Von Dhar und seinen Mitarbeitern ist behauptet worden, daß im Boden Stickoxyde nach Zugabe von Kohlehydraten als Energiequelle auch unter sterilen Bedingungen entstehen können. Zu der gleichen Feststellung ist Ramamoorthy gekommen, der außerdem über die Entstehung von N_2O_3 und NH_3 in kleinen Mengen schon beim Überleiten von feuchter Luft über Rohrzucker bei 98° berichtet. Zur Nachprüfung dieser Befunde wurde eine Apparatur entwickelt, die das Durchsaugen oder Durchdrücken von Luft während des Versuches entbehrlich macht und dadurch Fehler vermeidet, die durch Einschleppen von Luftverunreinigungen entstehen. Unter diesen Bedingungen trat bei Gegenwart von Zucker und nach Erhitzung auf 95° weder N_2O_3- noch NH_3-Bildung ein. Ebensowenig führte Uviolbestrahlung bei Zimmertemperatur zur NH_3-Bildung, wohl aber trat N_2O_3 in Spuren in Erscheinung. Da dieses aber auch bei Uviolbestrahlung ohne Zucker entstand, kann es sich dabei nicht um eine Koppelung der Stickstoffbindung mit der Zuckeroxydation gehandelt haben. *Rodenkirchen (Dresden).*

Abgeschlossen am 15. Oktober 1941.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 14|16.
Ausgegeben am 20. Dezember 1941.

Vergleichende Untersuchungen über den mikrobiciden Effekt verschiedener Konservierungsmittel.

2. Mitteilung.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Kiel. Direktor: Prof. Dr. habil. Andr. Lembke.]

Von **Hans Lagoni.**

Mit 8 Tabellen im Text.

Die meisten der Ernährung von Mensch und Tier dienenden Stoffe lassen nach mehr oder weniger langer Lagerung gewisse Veränderungen im Geruch, Geschmack und Aussehen erkennen. Diese Veränderungen sind zumeist das Ergebnis einer auf den betreffenden Stoffen erfolgten Mikrobenentwicklung. Derartig veränderte Nahrungsmittel gelten als verdorben und dürfen der Ernährung nicht mehr zugeführt werden.

Zur Beseitigung der auf diese Weise entstehenden Verluste sind zahlreiche Verfahren entwickelt worden, mit deren Hilfe es möglich ist, die leicht dem Verderb anheimfallenden Nahrungsmittel in ihrer Haltbarkeit zu verlängern. Es ist also das Ziel der Lebensmittelkonservierung, die in oder auf einem Substrat befindlichen Mikroorganismen in ihrer Entwicklungsfähigkeit zu hemmen und somit den Vorgang des Verderbens aufzuschieben oder zumindest zu verlangsamen. Es ist jedoch nicht die Aufgabe einer Haltbarmachung, die Mikroorganismen in den Nahrungsmitteln restlos abzutöten, d. h. die Substrate zu entkeimen, sondern lediglich die Substrate vor einer Weiterentwicklung der Mikroben zu schützen. Die Konservierung muß so durchgeführt werden, daß neben einem ausreichenden mikrobiziden Effekt eine Veränderung des Substrats in seinen charakteristischen Merkmalen nicht oder nur unbedeutend erfolgt, außerdem dürfen durch die Konservierung keine physiologischen Schädigungen des Organismus bewirkt werden.

Im Rahmen der außerordentlich vielgestaltigen Konservierungsmethoden nimmt die sog. „chemische Konservierung“, d. h. die Haltbarmachung von leicht verderblichen Stoffen durch Zusatz chemischer Verbindungen mit konservierenden Eigenschaften, einen breiten Raum ein. Auf Grund der guten Eignung für die Konservierungspraxis haben beispielsweise die Benzoesäure und einige ihrer Derivate weitgehende Anwendung gefunden. So erfolgt die Konservierung von Margarine sogar mit amtlicher Genehmigung. Da den Konservierungsmitteln aber aus den verschiedensten Gründen in ihrer Anwendungsmöglichkeit gewisse Grenzen gesetzt sind, hat sowohl die Wissenschaft als auch die Praxis weiterhin zur Beseitigung der bestehenden Unzulänglichkeiten nach neuen chemischen Verbindungen mit konservierenden Eigenschaften gesucht.

In neuerer Zeit ist nun auf das Diacetyl, eine Verbindung, die in der Margarineindustrie für Zwecke der Aromatisierung verwendet wird, aufmerksam gemacht worden, da dieser Stoff mikrobizide Eigenschaften besitzen soll. Die wenigen vorliegenden Untersuchungsergebnisse sind sehr uneinheitlich. Es wurden daher laboratoriumsmäßige Vergleichsuntersuchungen über den mikrobiziden Effekt von Diacetyl angestellt, mit dem Ergebnis, daß eine mikrobizide Wirkung des Diacetyls eindeutig ermittelt werden konnte. (Vgl. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 103. 1941. S. 225—231.) Da diese Ergebnisse jedoch ein Urteil über die Eignung von Diacetyl als Konservierungsmittel für Margarine nicht zulassen, sind vergleichende Konservierungsversuche zwischen Diacetyl und Benzoesäure angestellt worden, über die hier berichtet werden soll.

Die Untersuchungen gliedern sich in 2 Teile. Der erste Versuchsteil umfaßte die Untersuchung der mikrobiziden Wirkung und damit des konservierenden Effekts von Diacetyl in Margarine gegenüber unkonservierter Margarine, während es das Ziel des zweiten Versuchsteils war, das Diacetyl mit der Benzoesäure hinsichtlich der Eignung als Konservierungsmittel zu vergleichen.

Die Durchführung der Untersuchungen gestaltete sich folgendermaßen: Ungeknetete Margarine, die weder Konservierungsmittel noch Aromastoffe enthielt, wurde mit Diacetyl in verschiedenen Mengen versetzt und zwar so, daß die Konzentrationen an Diacetyl m/50, m/500, m/5000, m/10 000 und m/20 000 betrugen. Das Aufbringen des Diacetyls auf die Margarine erfolgte zur Erzielung einer möglichst feinen Verteilung mit Hilfe eines Druckluftzerstäubers. Die gleichmäßige Durchmischung wurde durch anschließendes intensives Kneten auf einem Tellerkneter erreicht.

Eine unbehandelte Margarineprobe wurde als Vergleich während längerer Zeit, wie auch die Diacetylproben, bei einer Temperatur von ca. $+15^{\circ}$ C gelagert. Zu Beginn und in regelmäßigen Abständen von 10 Tagen während der Lagerung erfolgte die Untersuchung der Proben auf Keimgehalt sowie auf Veränderungen im Geruch, Geschmack und Aussehen.

Im Anschluß an die vorbeschriebenen Untersuchungen wurden in der gleichen Weise Versuchsreihen durchgeführt mit Margarine, die zusätzlich mit Mikroben infiziert worden war, um die wachstumshemmende Wirkung des Diacetyls besonders deutlich herausstellen zu können. Kahmhefe, Bact. fluorescens und Penicillium commune, die als Schädlinge in der Margarineindustrie die Haltbarkeit der Margarine besonders ungünstig beeinflussen und gegen Konservierungsmittel verschieden widerstandsfähig sind, wie die Versuche auf Nährböden gezeigt haben, wurden in je einer Versuchsreihe in der gleichen Weise geprüft. Das Aufbringen der Mikroorganismen auf die Margarine erfolgte durch Verstäuben von Aufschwemmungen.

Zeichenerklärung.

Abnahme des Keimgehaltes — Zunahme des Keimgehaltes

über 75%

50—75%

25—50%

0—25%

0%

Diacetyl

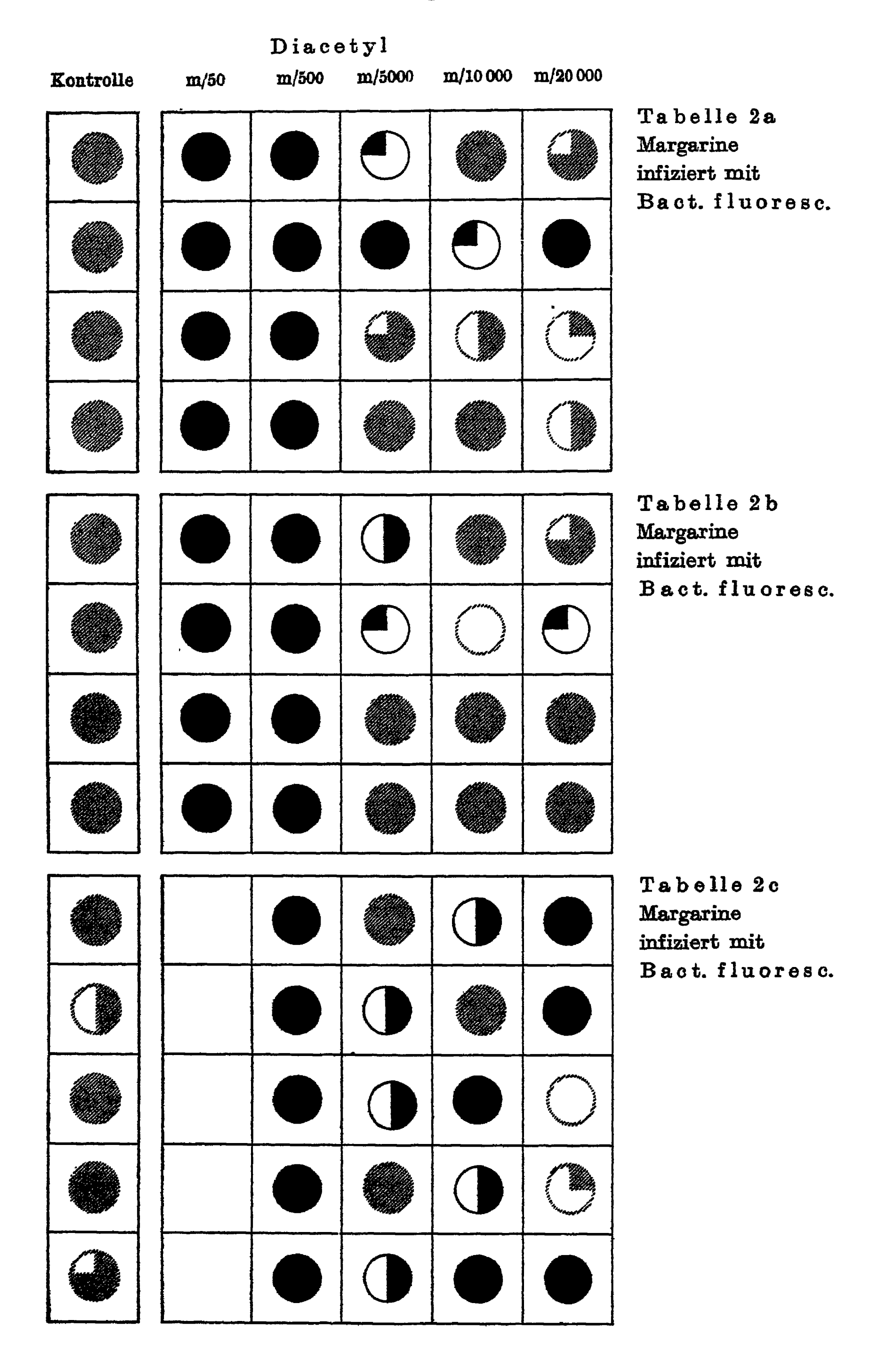
Kontrolle m/50 m/500 m/5000 m/10 000 m/20 000

Tabelle 1a
Margarine
unbeimpft

Tabelle 1b
Margarine
unbeimpft

Tabelle 1c
Margarine
unbeimpft

Im zweiten Teil wurden die gleichen Versuche auch mit Margarineproben gemacht, die Benzoesäure in Konzentrationen von m/500 und m/50 enthielten.



Zur Feststellung des mikrobiziden Effekts wurden die Proben während der Lagerung auf ihre Keimzahl untersucht, wobei Standard-Laktose-Agar und Würze-Agar als Nährböden Verwendung fanden. Die Ergebnisse dieser Keimzahlbestimmungen sind zu den Ausgangskeimzahlen durch Umrechnung in Beziehung gesetzt worden, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Die auf diese Weise ermittelten Werte wur-

Kontrolle	Diacetyl m/50	m/500	m/5000	m/10 000	m/20 000

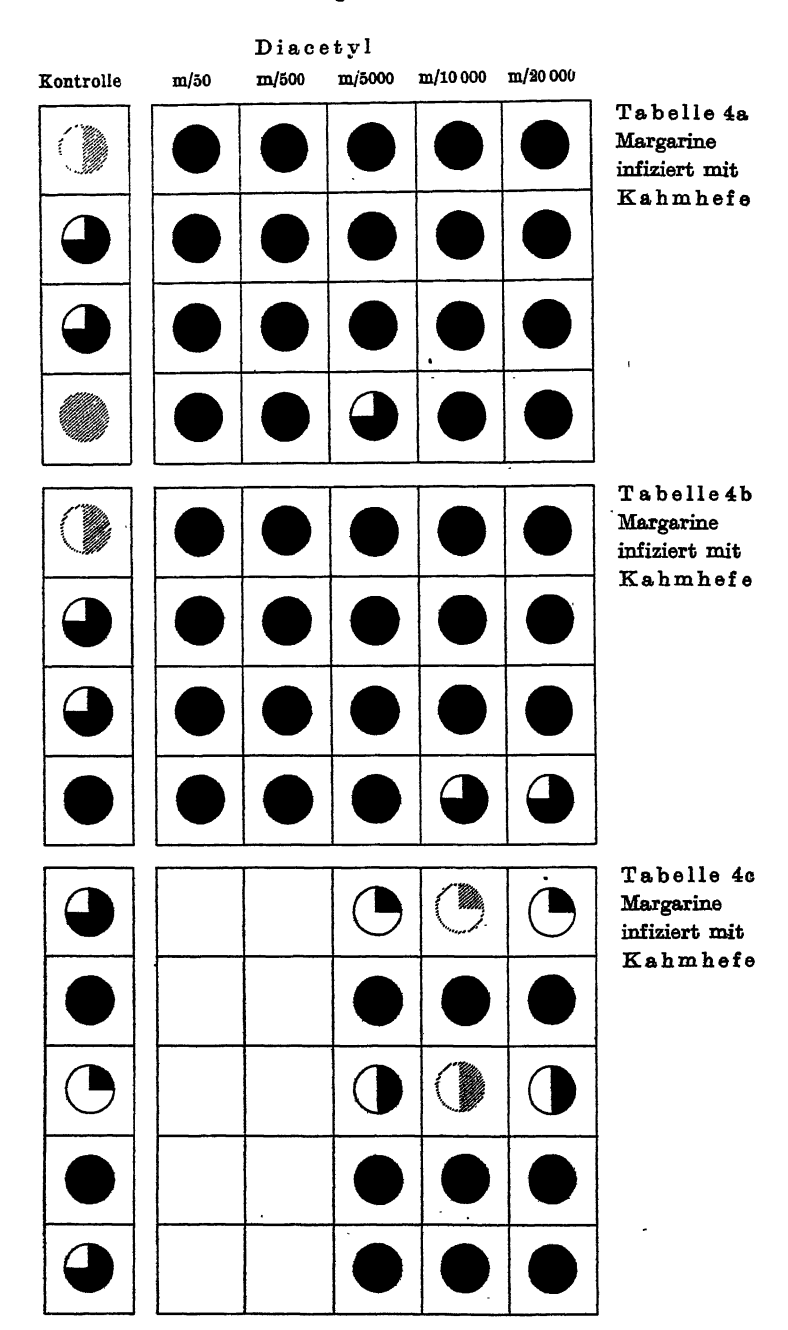
Tabelle 3a
Margarine infiziert mit Penic. commune

Tabelle 3b
Margarine infiziert mit Penic. commune

Tabelle 3c
Margarine infiziert mit Penic. commune

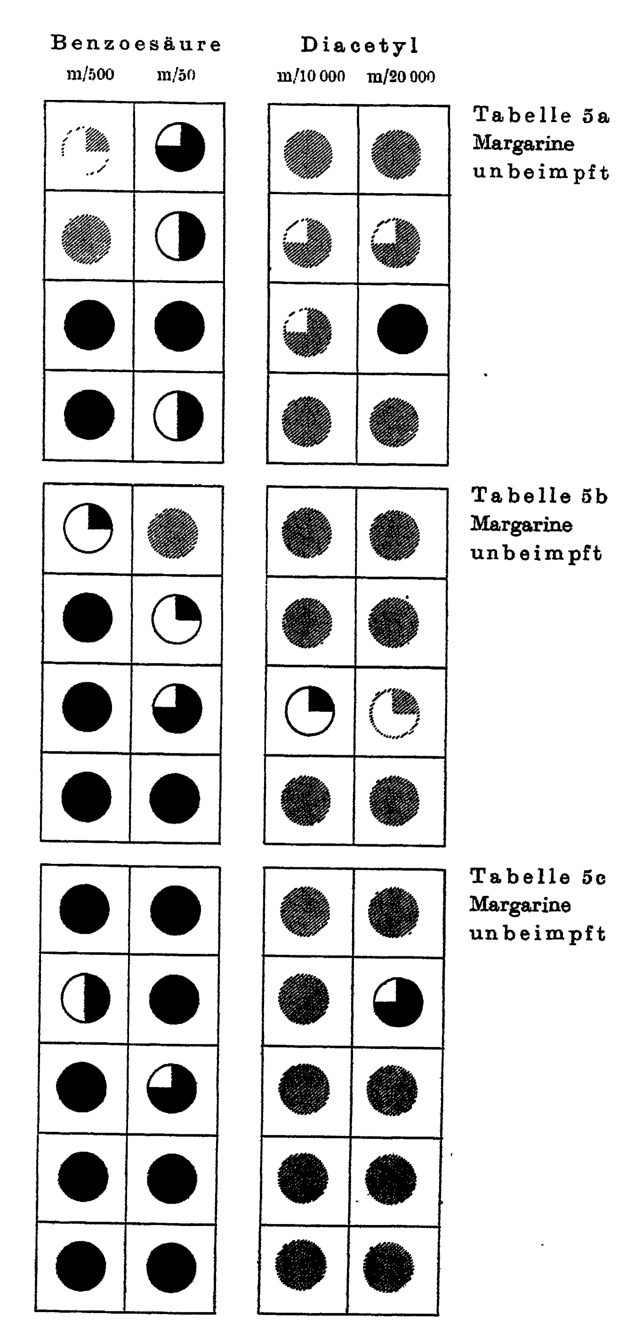
den alsdann in 4 Gruppen zusammengefaßt. Die einzelnen Gruppen umfassen die Zu- bzw. Abnahmebereiche 1—25%, 25—50%, 50—75% und über 75%, wobei die Abnahme in den Tabellen durch schwarze Zeichen und die Zunahme durch schraffierte Zeichen kenntlich gemacht worden sind.

Durch diese Art der Darstellung ist es möglich geworden, daß die bei biologischen



Untersuchungen unter praktischen Verhältnissen auftretenden Schwankungen, die das Gesamtbild beeinflussen könnten, ausgeschaltet werden.

Die Tab. 1 a—4 c enthalten die auf obige Weise ermittelten Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen nach den verschiedenen Lagerungszeiten. Die Ergebnisse der unkonservierten Kontrollen sind jeweils in den Tabellen in der ersten Säule zusammen-



gestellt, während die Zahlen der zweiten Säule über die Wirkung des Diacetyls Auskunft geben. In den Tab. 5a—8c finden sich die Ergebnisse der Vergleichsuntersuchungen zwischen Benzoesäure und Diacetyl.

Die Betrachtung der Tab. 1a—c, die die Ergebnisse von drei Parallelversuchen mit unbeimpfter Margarine enthalten, zeigt zunächst bei der Kon-

trolle fast durchgehend eine erhebliche Zunahme des Keimgehaltes im Verlaufe der Lagerung. Die Diacetylkonzentrationen m/50 und m/500 dagegen waren in der Lage, das Mikrobenwachstum weitgehend zu hemmen. Die Wirkung des Diacetyls in den niederen Konzentrationen ist keineswegs ausreichend gewesen, den Keimgehalt zu verringern, wenn auch die m/5000-Konzentration im Grenzbereich einer Wirksamkeit zu liegen scheint.

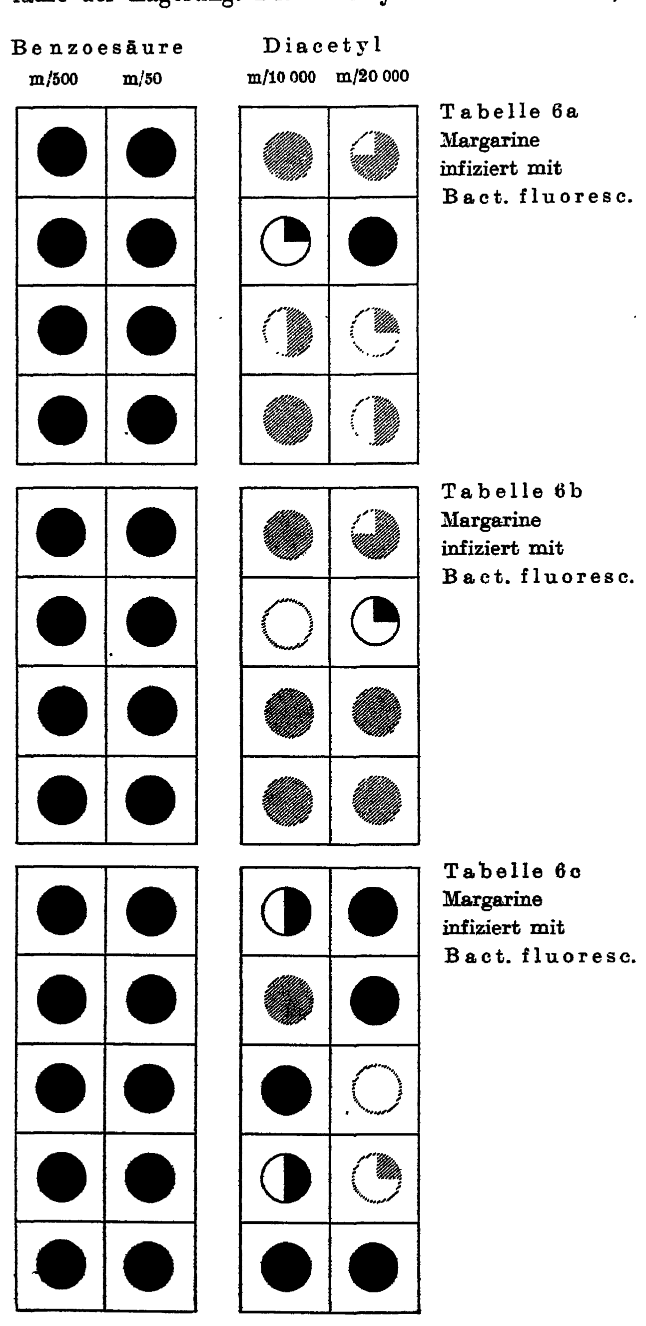


Tabelle 6a Margarine infiziert mit Bact. fluoresc.

Tabelle 6b Margarine infiziert mit Bact. fluoresc.

Tabelle 6c Margarine infiziert mit Bact. fluoresc.

Die Konservierungsversuche an Margarine, die zusätzlich mit Bact. fluorescens infiziert worden war, lassen, wie die Tab. 2a—c zeigen, eine gleiche Tendenz erkennen, wobei jedoch festzustellen ist, daß das Diacetyl in den niederen Konzentrationen, insbesondere m/5000, z. T. noch wirksam ist.

Hingegen sind die Untersuchungsergebnisse der mit Penicillium commune beimpften Margarine (Tab. 3a–c) weniger eindeutig. Die mikrobizide Wirkung des Diacetyls scheint sich hier jedoch im wesentlichen auf die Konzentrationen m/50 und m/500 zu beschränken.

Da bei den Versuchen mit kahmhefe-infizierter Margarine die Kontrollen im Verlaufe der Lagerung bereits Verminderungen im Keimgehalt zeigen, gestaltet sich die Beurteilung besonders

schwierig. Die genaue Betrachtung der Tab. 4a—c zeigt jedoch, daß Kahmhefe bereits durch die schwächste Konzentration m/20 000 im Wachstum gehemmt wird.

Insgesamt betrachtet zeigen die Ergebnisse dieser vier Versuchsreihen, wie schon aus den laboratoriumsmäßigen Prüfungen hervorging, einen deutlich mikrobiziden Effekt des Diacetyls, und zwar ist die Wirkung dieser Verbindung gegenüber den geprüften Mikroorganismen unterschiedlich. Als ausreichende Konzentrationen hinsichtlich einer wachstumshemmenden Wirkung sind solche bis zu m/500 anzusehen, trotz der in einzelnen Versuchsreihen ermittelten Wirksamkeit in geringeren Konzentrationen.

Die mit diesen Untersuchungen gleichlaufende Kontrolle der Veränderungen hinsichtlich des Geschmacks und Geruchs hat gezeigt, daß alle Margarineproben, die Diacetyl in Mengen von m/50, m/500 und m/5000 enthielten, als übertrieben bis unangenehm aromatisch abgelehnt wurden, so daß aus diesem Grunde diese Konzentrationen für Zwecke der Konservierung als ungeeignet ausgeschieden wurden, zumal

Benzoesäure: m/500, m/50 — Diacetyl: m/10 000, m/20 000

Tabelle 7a
Margarine
infiziert mit
Penic. commune

Tabelle 7b
Margarine
infiziert mit
Penic. commune

Tabelle 7c
Margarine
infiziert mit
Penic. commune

die Verträglichkeit des Diacetyls für den menschlichen Organismus in höheren Konzentrationen noch ungeklärt ist. Lediglich bei den Proben, die Diacetyl in den Konzentrationen m/10 000 und m/20 000 enthielten, wurde das Konservierungsmittel nicht als störend empfunden.

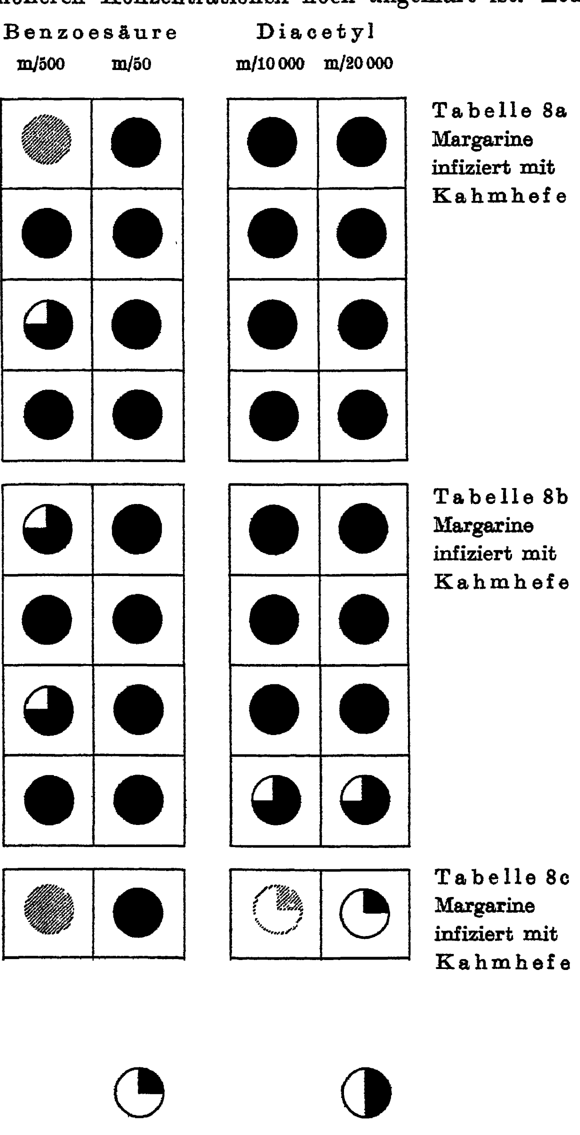


Tabelle 8a Margarine infiziert mit Kahmhefe

Tabelle 8b Margarine infiziert mit Kahmhefe

Tabelle 8c Margarine infiziert mit Kahmhefe

Für den zweiten Versuchsteil, der Aufschluß über die unterschiedliche Wirkung von Diacetyl und Benzoesäure geben sollte, wurden daher nur die Diacetylkonzentrationen m/10 000 und m/20 000 herangezogen. Diese wurden verglichen mit Benzoesäurekonzentrationen, die etwa denen entsprachen, die für die Konservierung amtlich zugelassen sind. Es wurden geprüft Margarineproben mit einem Gehalt von m/50 und m/500 Benzoesäure. Die Durchführung dieser Vergleichsversuche sowie ihre Auswertung erfolgte in der gleichen Weise wie oben. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Tabellen 5 a—8 c zusammengestellt.

Aus diesen Tabellen geht sowohl bei den Versuchen mit unbeimpfter als auch mit zusätzlich infizierter Margarine hervor, daß die Benzoesäure in der m/50-Konzentration durchgehend in ihrer Wirksamkeit den Diacetylproben überlegen ist. In den meisten Fällen kann diese Feststellung auch bereits bei der m/500-Benzoesäure-Konzentration bestätigt werden. Lediglich die mit Penicillium commune beimpfte Margarine macht hierin eine Ausnahme (Tab. 7 a—c), da hier offenbar m/500-Benzoesäure

nicht ausreichte, die Entwicklung dieses Schimmelpilzes genügend zu hemmen. Von einer deutlichen Diacetylwirkung in den geprüften Konzentrationen kann eigentlich nur bei den Versuchen mit kahmhefeinfizierter Margarine gesprochen werden.

Zusammenfassung.

Diacetyl entwickelt auch in Margarine in den Konzentrationen m/50 und m/500 sowie z. T. auch in niederen Konzentrationen eine starke wachstumshemmende Wirkung. Derartige Mengen sind jedoch wegen der außerordentlich starken Geschmacksbeeinflussung für Konservierungszwecke ungeeignet. Der Vergleich der Wirkung von Benzoesäure in Konzentrationen, wie sie amtlich zugelassen sind, mit Diacetyl in Konzentrationen, die keine wesentliche Veränderung im Geruch und Geschmack hervorrufen, hat ergeben, daß die Benzoesäure von stärkerer Wirkung ist und damit vom bakteriologischen Standpunkt aus für Zwecke der Konservierung geeigneter erscheint.

Läßt sich die optische Modifikation der gebildeten Milchsäure zur Identifizierung der echten Milchsäurebakterien verwenden?

[Aus dem biotechnisch-chemischen Laboratorium der Dänischen Technischen Hochschule, Vorstand Professor Dr. S. Orla-Jensen.]

Von **Anna D. Orla-Jensen.**

In älteren Untersuchungen von Péré (1), Tate (2) und Pottevin (3) ist gezeigt worden, daß die optische Modifikation der von einem Bakterium gebildeten Milchsäure durch die Zusammensetzung des Substrats beeinflußt werden kann. Da diese Versuche mit Bakterien der Koligruppe ausgeführt wurden, lassen die Resultate sich nicht ohne weiteres auf die echten Milchsäurebakterien übertragen, und die Versuche, welche mit Bakterien dieser Gruppe ausgeführt worden sind, zeigten meistens, daß dieselbe Bakterienart unter allen Verhältnissen die gleiche Modifikation oder die gleichen Modifikationen von Milchsäure bilden.

Die ersten, welche Untersuchungen dieser Art vorgenommen haben, sind Bertrand (4) und Ducháček (4). 1907 haben sie die Milchsäurebildung eines sog. Bacillus bulgaricus (in der Tat Thermobacterium jugurt Orla-Jensen) eingehend studiert, und gefunden daß er in Malzkeimenextrakt wie in Nährbouillon mit sämtlichen vergärbaren Zuckerarten lediglich inaktive Milchsäure bildet und nur in Milch nebenbei etwas Rechtsmilchsäure. J. Currie (5) isolierte 1911—1912 verschiedene thermophile Stäbchen aus Speichel, Fäces, Pferdemist und Kuhdünger, die er alle Bacillus bulgaricus nannte, und meinte aus seinen Versuchen schließen zu können, daß sie stets dieselbe Modifikation von Milchsäure bildeten.

In der Arbeit von 1919 „The Lactic Acid Bacteria“ zeigt S. Orla-Jensen (6), daß die einzelnen Arten von Milchsäurebakterien von sämtlichen Kohlenstoffquellen stets dieselben Modifikationen von Milchsäure bilden. Diese Tatsache ist später selbstverständlich geworden, nachdem man

weiß, daß die Vorstufe der Milchsäure stets dieselbe, nämlich Pyrotraubensäurephosphat, ist. S. Orla-Jensen verwendet dann auch die optische Modifikation der gebildeten Milchsäure zur Identifizierung der echten Milchsäurebakterien. Diesem Vorgehen schlossen sich Hucker (7) sowie Pederson, Peterson und Fred (8) an, wogegen die bulgarischen Forscher Kantradieff und Poppow (9) der Modifikation der Milchsäure keine systematische Bedeutung beimessen, weil sie behaupten, daß verschiedene Stämme von Bacterium bulgaricum — je nach dem Substrat — bald inaktive Milchsäure und bald Linksmilchsäure bilden. Leider haben wir diese Stämme nicht erhalten können.

Sehr wichtig ist es natürlich, daß man mit Reinkulturen arbeitet. So findet man z. B. in Säureweckern und in spontan gesäuerter Milch stets wechselnde Mengen von inaktiver Milchsäure, die durch das Zusammenwirken von rechtsmilchsäurebildenden Streptokokken mit linksmilchsäurebildenden Betakokken entstanden ist. Aber auch mittels eines besonderen Enzyms, der Racemiase, kann aktive Milchsäure in inaktive Milchsäure umgebildet werden. Dieses Enzym wurde zuerst von Pedersen, Petersen und Fred in Clostridium acetobutylicum und später von Kitagiri (10) in Staphylococcus ureae nachgewiesen. In den echten Milchsäurebakterien ist Racemiase dagegen noch nicht gefunden worden.

Als Ursache zur Entstehung der verschiedenen Milchsäuren nimmt S. Orla-Jensen an, daß Rechts- und Linksmilchsäure von zwei verschiedenen Enzymen gebildet werden. Ein Bakterium, das nur das eine der beiden Enzyme besitzt, wird stets nur Rechts- oder stets nur Linksmilchsäure bilden, wogegen ein Bakterium, das mit beiden Enzymen ausgestattet ist, außer inaktiver (racemischer) Milchsäure auch einen kleineren oder größeren Überschuß von Rechts- oder Linksmilchsäure bilden kann, je nachdem das eine oder das andere Enzym am stärksten vertreten ist. Wir kennen Milchsäurebakterien wie Thermobacterium helveticum, die unter allen Bedingungen lediglich reine inaktive Milchsäure bilden, hier muß das Enzymsystem also stets im Gleichgewicht sein; wir kennen aber auch Milchsäurebakterien, die neben inaktiver Milchsäure, unter verschiedenen Umständen wechselnde Mengen der aktiven Komponenten bilden, ja es ist nicht ungewöhnlich, daß das eine Enzym allmählich abgeschwächt wird, so daß ein Bakterium, das ursprünglich hauptsächlich inaktive Milchsäure bildete, nachdem es viele Jahre im Laboratorium weitergezüchtet ist, nur aktive Milchsäure (jedoch nur die Modifikation, welche ursprünglich im Übergewicht war und nie die entgegengesetzte) bildet.

Die durch diese Verhältnisse verursachten Änderungen in der optischen Modifikation der gebildeten Milchsäure habe ich in der vorliegenden Arbeit näher bestimmt, indem ich für einige hier im Laboratorium während 20 bis 30 Jahren weitergezüchtete Milchsäurebakterien die jetzt unter verschiedenen Bedingungen gebildeten Milchsäuremodifikationen mit den ursprünglich gefundenen verglichen habe. In einzelnen Fällen habe ich noch den Einfluß von schädlichen Stoffen, wie Phenol, und ferner von optisch aktiven Stoffen, wie das linksdrehende Strychnin und das rechtsdrehende Cinchonin, auf die Modifikation der gebildeten Milchsäure untersucht. Das letztere ist versucht worden, weil die Möglichkeit vorliegt, daß das optische Verhalten des Zellinhalts sich sozusagen in der optischen Modifikation der gebildeten Milchsäure widerspiegeln könnte. Bamsan und Laeverenz haben ja ge-

Tab. 1. Wassergehalt und optische Drehung von gereinigten Zinksalzen.

Säure-modifikation	Um-kristallisation Nr.	Salz g	Wasser-gehalt	αD
i	I	0,468	18,2	+ 0,8
	II	0,52	18,2	— 0,7
	III	0,50	18,0	+ 0,5
l	I	0,496	12,9	+ 8,3
	II	0,47	12,9	+ 8,5
	III	0,49	12,8	+ 8,4
	III	0,87	12,8	+ 7,6
d	0	0,91	13,5	— 7,0
	0	0,60	12,4	— 7,5
	0	0,31	12,4	— 7,6
	0	0,15	12,2	— 8,6
	I	0,53	13,6	— 6,6
	I	0,63	13,0	— 7,9
	I	0,32	13,6	— 8,8
	I	0,16	13,3	— 10,8
	II	0,69	12,8	— 7,8
	II	0,31	13,0	— 8,2
	II	0,16	13,3	— 8,0
	III	0,91	14,0	— 7,3
	III	0,63	13,0	— 7,6
	III	0,31	12,8	— 8,5
	III	0,16	12,1	— 9,5

zeigt (11), daß in einem Leberbrei das stereochemische Verhalten von Mandelsäure besonders durch Strychnin geändert werden kann.

Da die abweichenden Ergebnisse einzelner Forscher von den Untersuchungsmethoden herrühren könnten, ist es notwendig, die hier angewandte Methode genau anzugeben. Es ist besonders hervorzuheben, daß es völlig verfehlt ist, die Drehung der freien Milchsäuren zu bestimmen. Nach Bankroft und Davis (12) kommt die freie Milchsäure in vier mehr oder weniger anhydrierten Formen vor, wovon, allein was die Rechtsmilchsäure anbelangt, drei linksdrehend sind. Es ist notwendig, zuerst die reinen Zinklaktate zu präparieren, und es ist dann zu erinnern, daß die Salze der Rechtsmilchsäure linksdrehend und die der Linksmilchsäure rechtsdrehend sind. Die Milchsäure muß genügend lange mit ZnO digeriert werden, um eine Bildung von lactyl-milchsaurem Zinkoxyd zu vermeiden, weil dieses Salz ein höheres Drehungsvermögen als milchsaures Zinkoxyd hat. Dies ist von Jungfleisch und Godchot gezeigt worden (13). Dieselben Forscher zeigen, daß das Drehungsvermögen (αD) der Zinklaktate, besonders dasjenige des Zinksalzes der Rechtsmilchsäure mit steigender Konzentration kleiner wird (s. Tab. 1).

Die Präparation der Zinklaktate.

Von den zu untersuchenden Bakterien wurden Kulturen in ½—1 l-Erlenmeyerkolben angelegt. Als Nährsubstrat wurde Milch oder Kaseinpepton-Hefeautolysat-Bouillon mit verschiedenen Zuckerarten verwendet. Der Nährflüssigkeit war vor der Sterilisation die zur Neutralisation der gebildeten Säure nötige Kreidemenge zugesetzt worden. Besonders im Anfang wurden die Kulturen häufig durchgeschüttelt. Wenn

Tab. 2. Beispiele der
Substrat K + H

Bakterienstamm	Temperatur	Vergorene Dextrose g in 100 ccm	Gefundene Milchsäure vom vergorenem Zucker %	In 100 ccm Substrat		
				Titer $^1/_4$ n von		CaO in Lösung — der Kontrolle g
				Substrat — der Kontrolle	flücht. Säuren — der Kontrolle	
Tbm. bulgaricum	38°	2,8	97	16	0,3	0,738
Tbm. jugurt . .	38°	2,8	97	16	0,5	0,756
Sbm. casei 34. .	38°	2,8	95	16	4,3	0,745
	23°	2,8	90	14	7,4	0,686
Sbm. plantarum	38°	2,8	89	15,5	5,5	0,749
30	23°	2,8	79	10,5	5,9	0,720
	15°	2,8	93	12	4,6	0,755
Bbm. breve 5. .	30°	2,8	41,5	10	6,3	0,263
Bbm. breve 16 .	30°	2,8	44,3	11	6,2	0,256
Bbm. breve 24 .	30°	2,8	49,0	11	2,2	0,334
Bc. cremoris 6 .	30°	2,8	50,0	16	5,4	0,324
	23°	2,8	54,7	14	2,0	0,319
	15°	2,8	46,0	12	2,3	0,280

die Kulturen ursprünglich nicht mehr als 3% Zucker enthielten, war nach einem Monat bei der Optimaltemperatur des vorliegenden Bakteriums meistens die ganze Zuckermenge vergoren. Die an Kalk gebundene Milchsäure wurde durch Zusatz der berechneten Menge Schwefelsäure frei gemacht und mit Äther extrahiert. Die Extraktion geht am leichtesten, wenn die Kultur keinen Zucker und die kleinstmögliche Menge N-haltige Stoffe enthält. Von der geeigneten Stickstoffquelle genügt jeweils eine Menge, die 0,1% N entspricht.

Es wird erstrebt, die Milchsäure möglichst quantitativ zu gewinnen. Um zu kontrollieren, inwieweit dies gelungen ist, bestimmt man die gebildeten Mengen von freier Säure, löslichem Kalk und flüchtigen Säuren und drückt diese Werte in den entsprechenden Milchsäuremengen aus. Die Summe der zwei ersteren abzüglich der letzteren gibt einen annähernden Ausdruck für die gebildete Milchsäuremenge, welche ich in der Tab. 2 als „berechnet" bezeichne. Diese Menge läßt sich nicht einfach aus der vergorenen Zuckermenge berechnen, wenn es sich um Bakterien (wie Betabakterien und Betakokken) handelt, die neben Milchsäure noch größere Mengen von Beiprodukten bilden. Das nähere Verfahren war folgendes: Die Kulturen wurden 10 Min. unter wiederholtem Schütteln auf dem Wasserbad erhitzt, um die Kohlensäure auszutreiben, wonach filtriert wurde. Im Filtrat wurden unvergorener Zucker und löslicher Kalk bestimmt. Zur Entfernung und Bestimmung der flüchtigen Säuren wurden 200 ccm nach Zusatz von 0,5 ccm Schwefelsäure mit Wasserdampf abdestilliert. Der Rückstand wird zur Extraktion der Milchsäure verwendet, nachdem man im ganzen die der berechneten Milchsäuremenge entsprechende Menge Schwefelsäure zugesetzt hat. Da die Stickstoffsubstanzen und die Phosphate der Nährlösung stets etwas Schwefelsäure binden, muß jedoch ein geringer Überschuß an Schwefelsäure zugesetzt werden, damit die ganze Milchsäuremenge frei wird. Vor der Extraktion dampft man zur Syrupdicke ein und fügt wasserfreies schwefelsaures Natrium zu, bis man eine recht trockene Pasta hat. Diese wird unter Verreiben mit einem Pistill zuerst dreimal in der Schale und darauf 3 Tage im Soxhletschen Apparat mit Äther extrahiert. Um Bräunen der Masse zu vermeiden, wäre es besser, vor der Extraktion nicht einzutrocknen; eine quantitative Extraktion der Milchsäure aus dem flüssigen Substrat ist uns aber nie gelungen, weil die wässerige Phase während der Extraktion sich unter Aufnahme von Äther so stark ausdehnt, daß man ein Hinüberfließen derselben riskiert, wenn man nicht sehr wenig Material in Arbeit nimmt und somit mit einem großen schädlichen Raum arbeitet. Die von Äther befreite Milchsäure wird mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Hiervon werden 5 ccm zur Titrierung verwendet, was durch Übersättigung mit Alkali, Erwärmung auf dem Wasserbad in 10 Min. und Zurücktitrierung geschieht, damit eventuelle Anhydride zuerst zu Milchsäure umgewandelt werden.

vollständigen Analyse.
mit 3% Dextrose.

Milchsäure		Fraktionen von Zinklaktat									Optische Modifikation der Milchsäure	
extrahiert	berechnet	I			II			III				
g	g	g	Wasser	αD	g	Wasser	αD	g	Wasser	αD	jetzt	ursprünglich
2,72	2,74	1,25	12,8	+ 8	1,4	13,2	—	2,5	13,0	+ 7	l	l
2,72	2,79	4,2	18,0	—	1,4	18,0	—	0,46	17,4	—	i	i
2,67	2,67	1,7	13,8	— 7	3,0	13,6	—	1,1	13,5	— 7,6	d	—
2,52	2,35	1,5	14,1	— 6,5	1,4	13,7	— 7,3	0,4	13,8	— 8,1	d (i)	d
2,49	2,75	1,9	15,6	— 5,8	0,6	13,4	— 7,8	1,6	13,2	— 8,0	d, 20% i	—
2,2	2,41	0,26	16,9	— 3,1	1,2	16,1	— 2,3	3,1	13,8	— 6,3	d, 25% i	i
2,61	2,59	2,3	14,7	— 6,5	1,6	13,4	— 7,6	1,9	13,9	— 6,8	d (i)	—
1,2	0,95	2,05	18,0	—	0,4	17,4	—	—	—	—	i	i
1,24	1,06	2,2	18,0	—	0,4	17,8	—	—	—	—	i	i
1,37	1,32	2,5	18,0	—	0,3	18,2	—	0,17	17,8	—	i	i
1,42	1,28	0,8	13,3	+ 6,4	1,8	13,5	+ 7,2	0,3	15,1	+ 5,6	l (i)	—
1,53	1,30	2,16	13,1	+ 7,7	0,7	13,7	+ 5,8	—	—	—	l, 12% i	i
1,29	1,12	2,11	13,2	+ 7,7	0,5	13,0	+ 6,0	—	—	—	l	—

Die in dieser Weise bestimmte Milchsäure ist in der Tab. 2 die extrahierte genannt. Der Rest der Milchsäurelösung wird eine Stunde auf dem Wasserbad mit Zinkoxyd digeriert. Zur Entfärbung der Lösung wird gleichzeitig etwas Knochenkohle zugesetzt. Wenn genügend Material vorliegt, stellt man aus dem Filtrat drei Fraktionen von Zinklaktaten dar. Die zur dritten Fraktion verwendete Mutterlauge muß wieder mit Knochenkohle gereinigt werden. Da die inaktiven Salze schwerer löslich sind, als die aktiven, kristallisieren sie zuerst aus, und in Mischungen gewinnt man sie deshalb vorzugsweise in der ersten Fraktion. Die Laktate werden 2 Tage über Schwefelsäure getrocknet und in fein pulverisiertem Zustande aufbewahrt.

Die Analyse der Zinklaktate.

Für die Analyse wird am besten 0,5 g der Salze verwendet. Vor der genauen Abwägung muß das Salz noch weiter 2—3 Tage über Chlorkalzium getrocknet werden. Zur Bestimmung des Kristallwassers wird 2 Std. auf 140—160° erhitzt. Bekanntlich enthält reines inaktives Zinklaktat 18,2%, während die aktiven Zinklaktate 12,9% Kristallwasser enthalten. Die entwässerten Salze werden in 25 ccm Wasser gelöst und weiter zur Bestimmung des Drehungsvermögens benutzt.

Um die Genauigkeit der Methoden zu kontrollieren, analysierten wir zuerst einige dreimal umkristallisierte Zinklaktate, die durch Bakterien produziert waren, welche nur eine Modifikation der Milchsäure bildeten. Die Ergebnisse sind in der Tab. 1 zusammengestellt.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die Wasserbestimmung für die Salze der inaktiven Milchsäure und der Linksmilchsäure befriedigend ist. Für die Zinksalze der Rechtsmilchsäure schwankt der Wassergehalt dagegen zwischen 12,2—13,6 (14,0). Dies rührt daher, daß das Vertrocknen dieses Salzes gewisse Schwierigkeiten bietet, indem es, wenn man zu lange trocknet, schon bei Zimmertemperatur Kristallwasser abgeben kann. Die niedrigsten Werte (12,2—12,4) haben wir erhalten durch langes Vortrocknen über Schwefelsäure, was also nicht zu empfehlen ist. Die Tabelle zeigt ferner, wie schon

Tab. 3. Nachprüfung bei variierten Temperaturen und sonst optimalen Bedingungen.

Thermobakterien (Tbm.).

Bakterium	Substrat	Temperatur	Optische Modifikation der Milchsäure	
			jetzt	ursprünglich
Tbm. helveticum	Milch	50°	i	i
	,,	38°	i	
	,,	23°	i	
Tbm. jugurt	Milch	50°	i (d)	i
	,,	38°	i (d)	
	,,	23°	i (25% d)	
	K + H	38°	i	
	,,	23°	i	
Tbm. bulgaricum	Milch	50°	l	l
	,,	38°	l	
	,,	23°	l	
	K + H	38°	l	
	,,	30°	l	
Tbm. latcis 8	Milch	50°	l	
	,,	45°	l	
	,,	40°	l	
	,,	25°	l	
	K + H	30°	l	
Streptobakterien (Sbm.).				
Sbm. casei 3	Milch	30°		i
	Milch verdündt	30°	i	
	K + H verdünnt	30°	i	
Sbm. casei 5	Milch	30°	i	i, id, d
	Milch verdünnt	30°	i	
	K + H	30°	i	
Sbm. casei 15	Milch	30°		i, id, i
	K + H	30°	i	
Sbm. casei 29	Milch	30°		d
	K + H	30°	d	
Sbm. casei 34	Milch	45°	d	d
	,,	40°	d	
	,,	30°	d	
	,,	20°	d	
	Milch verdünnt	30°	d	
	K + H	38°	d	
	,,	30°	d	
	,,	15°	d	
	K + H verdünnt	38°	d	
	,,	30°	d	
	,,	30°	d (i)	
	,,	15°	d	
	Kaseinpepton	38°	d	
	,,	30°	d	
	Kaseinpept. verd.	38°	d	
	,,	30°	d	
Sbm. plantarum 10 . . .	K + H	30°	i	i
Sbm. plantarum 15 . . .	K + H	30°	i	i
Sbm. plantarum 18 . . .	K + H	30°	i	i
Sbm. plantarum 20 . . .	Milch	40°	d	di, d
	,,	30°	d	
	,,	23°	d	

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Bakterium	Substrat	Temperatur	Optische Modifikation der Milchsäure	
			jetzt	ursprünglich
	Streptobakterien (Sbm.).			
Sbm. plantarum 28 . . .	Milch	38°	d, 40% i	di
	„	23°	d, 40% i	
	Milch	38°	d	
	„	30°	d, 15% i	di
	„	23°	d (i)	
	Milch + 5% H verd.	30°	d i	
	K + H	38°	d, 15% i	
	„	30°	d, 20% i	
Sbm. plantarum 29 . . .	„	15°	d, 15% i	
	K + H verdünnt	38°	d d	
	„	30°	d	
	„	15°	d	
	Kaseinpepton	30°	d, 5% i	
	„	15°	d, 15% i	
	Kaseinpept. verd.	30°	d	
	Milch	38°	d	i
	„	23°	d	
	Milch + 5% H verd.	30°	d, 10% i	
Sbm. plantarum 30 . . .	K + H	38°	d, 20% i	
	„	23°	d, 25% i	
	„	15°	d (i)	
	K + H verdünnt	30°	d, 20% i	
Sbm. plantarum 32 . . .	K + H	30°	d, 25% i	d
	Betabakterien (Bbm.).			
Bbm. breve 5	K + H	30°	i	i
	„	23°	i	
Bbm. longum 14	K + H	30°	i	
Bbm. longum 16	„	30°	i	
Bbm. longum 24	„	30°	i	
Bbm. longum 32	„	30°	i	i
	„	23°	i	
	Malzextrakt	30°	i	
	Streptokokken (Sc.).			
	Milch + 5% H	40°	d	
Sc. liquefaciens	„	30°	d	d
	„	20°	d	
Sc. bovis 9.	Milch + 5% H	30°	d	d
	Milch + 5% H	45°	d	
Sc. thermophilus 6 . . .	„	40°	d	d
	„	30°	d	d
	„	20°	d	
	Milch + 5% H	45°	d	
Sc. pyogenes 10	„	40°	d	
	„	30°	d	d
	Betakokken (Bc.).			
	K + H	30°	l	l
Bc. bovis 37	„	20°	l	l
	„	10°	l	

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Bakterium	Substrat	Temperatur	Optische Modifikation der Milchsäure	
			jetzt	ursprünglich
Bc. bovis 42	K + H	30°	l (i)	li
	„	20°	l	i, l
	„	10°	l	
Bc. arabinosaceus 6 . .	K + H	30°	l	
	„	20°	l	i, l
	„	10°	l	
Bc. arabinosaceus 13 . .	K + H	20°	l (i)	l
	„	10°	l	
Bc. cremoris 6	K + H	30°	l (i)	
	„	23°	l, 10% i	l
	„	15°	l	
Bc. cremoris 10	K + H	30°	l, 9% i	
	„	23°	l, 7% i	i
	„	15°	l, 6% i	

erwähnt, daß αD mit der Salzkonzentration kleiner wird, und daß es hier wiederum die Salze der Rechtsmilchsäure sind, welche am stärksten reagieren.

In den folgenden Analysen ist jeweils die einzelne optische Milchsäuremodifikation aus dem Verhalten der Fraktionen und der Menge derselben berechnet. Wir rechnen nur mit einer Genauigkeit von 5%, und können deshalb von einer Modifikation keine prozentische Menge angeben, wenn weniger als 5% davon vorliegt, wir begnügen uns dann damit, diese Modifikation in Klammern anzugeben. Ein etwas zu großer Wassergehalt eines Laktats wird nur dann berücksichtigt, wenn das Drehungsvermögen desselben gleich-

Tab. 4. Einfluß der Stickstoffmenge bei 30° Molken mittels Zitronensäure enteiweißt

Bakterienstamm	N im Substrat	in 100 ccm Substrat				
		Laktose vergoren	CaO in Lösung — der Kontrolle	flüchtige Säuren als Milchsäure berechnet	Milchsäure extrahiert	Milchsäure berechnet
	%	g	g	g	g	g
Sc. faecium 19	0,05	1,82	0,608	0,206	1,69	1,75
	0,1	3,2	0,657	0,25	1,80	1,86
	0,2	3,0	0,737	0,23	2,5	2,14
	0,3	3,2	0,863	0,25	2,54	2,53
	0,4	3,7	0,885	0,26	2,7	2,57
Sbm. plantarum 29 . .	0,1	3,4	0,936	0,18	2,94	2,85
	0,2	4,1	1,153	0,20	3,72	3,5
	0,3	4,76	1,332	0,22	3,6	4,1
	0,4	4,76	1,222	0,31	3,15	3,61
Sbm. casei 34	0,05	4,01	1,105	0,28	2,93	3,27
	0,1	4,76	1,368	0,29	3,66	4,11
	0,2	4,76	1,325	0,40	4,08	3,92
	0,3	4,76	1,251	0,37	3,79	3,65
	0,4	4,76	1,195	0,32	3,21	3,54

zeitig klein ist. Tab. 2 gibt einige Beispiele von vollständigen Analysen der Zinklaktate.

Aus Tab. 2 geht hervor, daß die direkt durch Titration gefundene Milchsäuremenge meistens gut mit der berechneten Menge übereinstimmt. Auf die anderen Ergebnisse dieser Tabelle kommen wir später zurück. Um Platz zu sparen, geben wir in den folgenden Tabellen die Endresultate der Analysen an.

Die Untersuchungen.

In der Tab. 3 sind die Ergebnisse von Untersuchungen über den Einfluß der Gärungstemperatur auf die Modifikation der Milchsäure zusammengestellt. Die Untersuchungen sind mit Repräsentanten für die Hauptgattungen der Milchsäurebakterien, die Thermobakterien, die Streptobakterien, die Betabakterien, die Streptokokken und die Betakokken in verschiedenen Nährsubstraten vorgenommen. Die verwendeten Substrate waren Milch, pepsinverdautes Kasein (K) und Mischungen desselben mit Hefeautolysat (H), beide auf 0,5% N oder auf 0,1% N eingestellt. Von Mischungen wurden 75% K + 25% H und 95% K + 5% H verwendet. Diese sind in den Tabellen „verdünnt“ genannt, wenn sie nur 0,1% N enthalten. In den Bouillonkulturen war der Zuckergehalt (Dextrose, wo nicht anders angegeben wird) 3—5%. Sämtlichen Kulturen waren 3% Kreide zugesetzt. Die Kreide darf nicht die allerfeinste Vermahlung sein, weil sie dann schwer abfiltrierbar ist.

Aus Tab. 3 geht hervor, daß weder die Gärungstemperatur noch die Zusammensetzung des Substrats entscheidend für die gebildete Milchsäuremodifikation ist. Eine gewisse Schwankung findet, wie erwähnt, statt, wenn inaktive Milchsäure mit einem Überschuß einer der aktiven Modifikationen gebildet werden kann. Diese Schwankungen scheinen indessen von zufälliger Natur zu sein. Bei Thermobacterium jugurt ist jedoch eine gewisse Gesetzmäßigkeit vorhanden. Wie Bertrand und Ducháček

und mit einem Zusatz von 0,015% Cystein und verschiedenen Mengen Witte-Pepton.

Fraktionen der Milchsäure									Optische Modifikation der Milchsäure	
I			II			III				
g	Wasser	αD	g	Wasser	αD	g	Wasser	αD	jetzt	ursprünglich
2,0	13,5	— 8,0	2,2	13,0	— 6,7	0,2	13,0	— 6,9	d	
3,0	13,3	— 7,6	0,9	13,1	—	—	—	—	d	
4,8	13,1	— 7,5	0,5	14,0	— 6,0	—	—	—	d (i)	
3,5	12,9	—	1,1	13,6	— 6,9	—	—	—	d	
5,4	13,0	—	1,4	13,3	— 7,0	0,17	14,2	— 7,4	d	d
2,9	13,3	— 7,8	3,5	13,5	— 6,5	0,7	14,8	— 5,6	d, 5% i	
5,1	12,6	— 7,7	2,3	13,6	— 6,4	1,0	13,6	— 5,0	d, 5% i	
5,2	13,3	— 7,7	2,2	13,5	— 6,8	2,4	13,5	— 6,7	d	d i
4,4	13,1	— 7,2	1,1	13,3	— 7,6	2,0	13,4	— 7 0	d	
2,7	13,0	— 7,9	1,7	13,3	— 6,9	1,9	13,3	— 7,1	d	
6,1	12,9	— 5,5	1,8	13,2	— 7,5	2,0	13,8	— 6,1	d (i)	
3,7	13,1	— 7,5	4,2	13,0	— 7,6	0,9	14,4	— 6,4	d (i)	
4,2	13,2	— 6,6	1,9	13,2	—	1,7	13,6	— 6,7	d	
3,2	13,3	— 7,2	3,3	13,0	— 8,8	1,9	13,8	— 6,0	d	d

Tab. 5. Einfluß der Art des Zuckers. Züchtungstemperatur 30°.

Bakterienstamm	Substrat und Zuckerart	Optische Modifikation der Milchsäure	
		jetzt	ursprgl.
Sbm. plantarum 29 . .	K + 5% H mit		
	2% Dextrose	d (i)	d i
	2% Maltose	d (i)	
	2% Laktose	d (i)	
	2% Saccharose	d i	
Sbm. plantarum 42 . .	K + 5% H mit		
	2% Dextrose	i	i
	2% Galaktose	i	
	2% Maltose	i	
	2% Laktose	i	
	2% Saccharose	i	
Sbm. casei 23	K + 5% H mit		
	2% Dextrose	d, 30% i	
	2% Laevulose	d, 30% i	
	2% Galaktose	d, 30% i	
	2% Laktose	d, 30% i	d
	2% Mannit	d, 50% i	
Sbm. casei 34	K + 5% H mit		
	2% Dextrose	d	
	2% Maltose	d	
	2% Laktose	d	d
	2% Saccharose	d	
Bc. bovis 37	K + 25% H mit		
	2% Dextrose	l. 10% i	l (i)
	2% Laevulose	l. 15% i	
	2% Galaktose	l, 15% i	
Bc. bovis 42	K + 25% H mit		
	2% Dextrose	l, 10% i	l (i)
	2% Laevulose	l, 15% i	
	2% Galaktose	l, 15% i	

finde ich auch, daß es in allen Substraten nur inaktive Milchsäure bildet, nur in Milch bildet es noch etwas Rechtsmilchsäure, und die Menge derselben steigt in der Nähe seiner Minimaltemperatur, bei 23° C bis 25%. In der letzten Kolumne der Tab. 3 sind die Resultate der ursprünglichen 20 bis 30 Jahre alten Analysen angegeben, und man sieht, daß die untersuchten Bakterienstämme sich bezüglich der Modifikation der gebildeten Milchsäure nicht mehr geändert haben, als es den jetzigen Schwankungen in dieser Richtung entspricht.

Daß der Stickstoffgehalt des Nährsubstrats keinen Einfluß auf die Modifikation der Milchsäure ausübt, geht schon aus der Tab. 3 hervor, und ist durch die Ergebnisse der Tab. 4 bestätigt worden. Als Substrat ist hier Molke, die durch Erhitzung mit Zitronensäure auf 0,05% N enteiweißt ist, verwendet. Der Stickstoffgehalt wurde dann durch Zusatz von steigenden Mengen Witte-Pepton wieder erhöht. Um das Wachstum der Bakterien zu fördern, wurde noch 0,015% Cystein zugesetzt.

Der Einfluß verschiedener Zuckerarten geht aus der Tab. 5 hervor. Wie erwähnt, bekommt man mit sämtlichen Zuckerarten dieselben Modifikationen der Milchsäure, aber auch hier kann das Mengenverhältnis zwischen den

Tab. 6. Einfluß von Alkaloiden und Phenol.

Bakterienstamm	Substrat und Zusatz	Temperatur	Optische Modifikation der Milchsäure
Tbm. Jugurt	Milch mit		
	0 ‰ Alkaloid	38°	i (d)
	0,2 ‰ Strychnin	38°	i, 25 % d
	2 ‰ Strychnin	38°	i, 10 % d
	0,2 ‰ Cinchonin	38°	i, 25 % d
	2 ‰ Cinchonin	38°	i, 10 % d
Tbm. bulgaricum	Milch mit		
	0 ‰ Alkaloid	38°	i
	1 ‰ Strychnin	38°	i
	1 ‰ Cinchonin	38°	i
Tbm. lactis 8	Milch mit		
	0 ‰ Alkaloid	38°	i
	1 ‰ Strychnin	38°	i
	1 ‰ Cinchonin	38°	i
	1 ‰ Phenol	38°	i
	K + 25 % H mit		
	1 ‰ Strychnin	38°	i
	1 ‰ Cinchonin	38°	i
Sbm. plantarum 20	Milch mit		
	0 ‰ Alkaloid	30°	d
	1 ‰ Strychnin	30°	d
	1 ‰ Cinchonin	30°	d
Sbm. plantarum 28	Milch mit		
	0 ‰ Alkaloid	30°	d, 40 % i
	1 ‰ Strychnin	30°	d, 10 % i
	1 ‰ Cinchonin	30°	d, 20 % i
Sbm. plantarum 29	Milch mit		
	0 ‰ Alkaloid	30°	d, 15 % i
	1 ‰ Strychnin	30°	d, 20 % i
	1 ‰ Cinchonin	30°	d, 20 % i
	K + 25 % H, 0,1 % N mit		
	0 ‰ Alkaloid	30°	d
	1 ‰ Strychnin	30°	d
	1 ‰ Cinchonin	30°	d
	1 ‰ Phenol	30°	d
Sbm. casei 34	Milch mit		
	0 ‰ Alkaloid	30°	d
	1 ‰ Strychnin	30°	d, 10 % i
	1 ‰ Cinchonin	30°	d, 15 % i
	K + 25 % H (0,1 % N) mit		
	0 ‰ Alkaloid	30°	d (i)
	1 ‰ Strychnin	30°	d
	1 ‰ Cinchonin	30°	d
	1 ‰ Phenol	30°	d
Bc. bovis 42	K + 25 % H mit		
	0 ‰ Alkaloid	15°	l
	2 ‰ Strychnin	15°	l
	2 ‰ Cinchonin	15°	l
Bc. bovis 48	K + 25 % H mit		
	0 ‰ Alkaloid	15°	l
	2 ‰ Strychnin	15°	l
	2 ‰ Cinchonin	15°	l
Bc. bovis 51	K + 25 % H mit		
	0 ‰ Alkaloid	15°	l
	2 ‰ Strychnin	15°	l
	2 ‰ Cinchonin	15°	l

Modifikationen variieren, wenn das betreffende Bakterium überhaupt mehr als eine Modifikation zu bilden vermag, und dies ist ja immer der Fall, wenn inaktive (razemische) Milchsäure gebildet wird. So z. B. bildet Streptobacterium casei 23 mit Mannit außer Rechtsmilchsäure 50% inaktive Milchsäure, während es mit den eigentlichen Zuckerarten nur 30% inaktiver Milchsäure bildet. Ursprünglich haben wir gefunden, daß dieses Bakterium nur Rechtsmilchsäure bildete, es lag jedoch nur eine Analyse vor, und die war ohne fraktioniertes Auskristallisieren der Zinklaktate vorgenommen, wodurch eine geringere Menge inaktive Milchsäure leicht übersehen werden kann.

Endlich habe ich in der letzten Tabelle die Ergebnisse zusammengestellt, welche ich durch Zusatz von Alkaloiden oder Phenol erhielt.

Auch hier sind die Schwankungen nicht so groß, daß man sie den geprüften Faktoren zuschreiben darf. Bezüglich der für verschiedene Faktoren empfindlichen Thermobacterium jugurt scheint jedoch eine kleine Alkaloidmenge (0,2‰) die Menge der gebildeten Rechtsmilchsäure ebenso stark zu erhöhen wie eine Erniedrigung der Temperatur es tut (siehe Tab. 3). Merkwürdigerweise fällt aber wieder die Menge der Rechtsmilchsäure, wenn die Alkaloidmenge auf 2‰ steigt, und die Wirkung ist die gleiche, einerlei, ob das Alkaloid rechtsdrehend oder linksdrehend ist. Die rechtsdrehende Modifikation der Milchsäure steigt auch durch Alkaloidzusatz, was Streptobacterium plantarum 28 anlangt, während das Umgekehrte der Fall ist bezüglich Streptobacterium casei 34. Zum Schluß möchte ich den interessanten Befund erwähnen, daß zwei naheverwandte Streptokokken, Sc. liquefaciens (Nr. 1) und Sc. apis, die sich nur dadurch unterscheiden, daß der erstere aus Kohlehydraten Rechtsmilchsäure, der letztere dagegen inaktive Milchsäure bildet, aus Inosit, das sie merkwürdigerweise zu vergären imstande sind, beide ungefähr gleiche Teile von Rechts- und inaktiver Milchsäure bilden.

Zusammenfassung.

1. Es wurde erstrebt, die durch Gärung gebildete Milchsäure so vollständig wie möglich zu gewinnen. Dies gelang meistens so gut, daß der Titer des Milchsäureextrakts mit der Milchsäuremenge übereinstimmt, die man aus dem gebildeten löslichen Kalk berechnen kann.

2. Die Bestimmung der optischen Modifikation oder Modifikationen der gebildeten Milchsäure wird in gewöhnlicher Weise mittels Bestimmungen von Kristallwasser und Drehungsvermögen verschiedener Fraktionen der Zinksalze vorgenommen. Am ungenauesten sind die Bestimmungen bezüglich der Rechtsmilchsäure, weshalb wir mit einer Fehlergrenze von 5% rechnen müssen.

3. Von den wichtigsten Arten von Milchsäurebakterien habe ich dieselben Stämme untersucht, die auch vor 20—30 Jahren hier untersucht wurden, und ich habe keine wesentlichen Änderungen in den von ihnen gebildeten optischen Modifikationen der Milchsäure nachweisen können.

4. Durch Änderung der Gärungstemperatur und der Art und Menge der Kohlenstoff- und Stickstoffquellen, sowie durch Zusatz von Alkaloiden und Phenol habe ich versucht, die Modifikation der gebildeten Milchsäure zu ändern. Die hierdurch verursachten Änderungen sind jedoch meistens nicht größer als die, welche durch mehr zufällige Beeinflussungen entstehen können. Nur in Milchkulturen von Thermobacterium jugurt ent-

stehen sowohl bei niedriger Temperatur wie bei Zusatz geringer Mengen von Alkaloiden neben der für dieses Bakterium chrakteristischen inaktiven Milchsäure, auch recht große Mengen von Rechtsmilchsäure.

5. Ich habe bestätigen können, daß gewisse Arten von Milchsäurebakterien stets Rechtsmilchsäure oder stets Linksmilchsäure oder stets genau die gleiche Menge dieser beiden Modifikationen, also lediglich inaktive (razemische) Säure bilden, daß es aber häufiger ist, daß die Arten, welche die beiden aktiven Modifikationen der Milchsäure bilden, einen größeren oder kleineren Überschuß der einen der aktiven Modifikation erzeugt. Es ist jedoch stets dieselbe optische Modifikation, welche in Überschuß ist, es geschieht deshalb nie, daß ein Milchsäurebakterium bald Rechts- und bald Linksmilchsäure bildet, sondern nur, daß es entweder inaktive Milchsäure mit wechselnden Mengen von Rechtsmilchsäure oder inaktive Milchsäure mit wechselnden Mengen von Linksmilchsäure bildet. Das Verhältnis zwischen der inaktiven und der aktiven Säure kann indessen recht stark schwanken, so daß wir einmal hauptsächlich inaktive und im anderen Fall hauptsächlich aktive Säure bekommen.

6. Der Titel dieser Arbeit ist: Läßt sich die optische Modifikation der gebildeten Milchsäure zur Identifizierung der echten Milchsäurebakterien verwenden? Hierauf kann jetzt geantwortet werden: *In den Fällen, wo nur eine Modifikation von Milchsäure gebildet wird, ist dieselbe selbstverständlich ein sehr wertvolles Identifizierungsmittel, aber auch in den Fällen, wo neben inaktiver Milchsäure größere oder kleinere Mengen von aktiver Milchsäure gebildet werden, können die Modifikationen der Milchsäure zur Identifizierung benutzt werden, wenn man nur genau weiß, wie die einzelnen Arten von Milchsäurebakterien sich in dieser Beziehung verhalten.*

Literatur.

1. Péré, M. A., Ann. Inst. Pasteur. T. 6. 1892. p. 512; T. 7. 1893. p. 737; T. 12. 1898. p. 63. — 2. Tate, G., Journ. Chem. Soc. T. 63. 1893. p. 1263. — 3. Pottevin, H., Ann. Inst. Pasteur. T. 12. 1898. p. 49. — 4. Bertrand, G., et Duchácek, Fr., Biochem. Ztschr. Bd. 20. 1909. S. 100. — 5. Currie, J., Journ. Biol. Chem. Vol. 10. 1911/12. p. 201. — 6. Orla-Jensen, D. Kgl. DanskeVidensk. Selsk. 8 Raekke. Bd. 5. 1919. S. 2. — 7. Hucker, G. J., N.Y.S. Agric. Exp.St.Geneva, Tech. Bull. 1928. p. 143. — 8. Pederson, C. S., Peterson, W. H., and Fred, E. B., Journ. Biol. Chem. Vol. 68. 1926. p. 151. — 9. Kantardieff, A. und Poppow, J., Milchwirtsch. Forsch. Bd. 11. 1931. S. 368. — 10. Katagiri, H., and Kitahara, K., Biochem. Journ. Vol. 31. 1937. p. 909. — 11. Bamsan, E. und Laeverenz, P., Ber. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 63. S. 395 u. 2939. — 12. Bancroft, W. D., and Davis, H. L., Journ. Chem. Phys. Vol. 35. 1931. p. 2508. — 13. Jungfleich et Godchot, C. R. de l'Akad. d. Sci. T. 139. p. 56 et 203; T. 140. p. 719; T. 142. p. 515.

Wirkung von Glukose auf die Zellulosezersetzung einiger Cytophaga-Arten.

[Aus dem Institut für physiologische Botanik der Universität Upsala.]

Von **Gösta Fåhraeus.**

Mit 7 Abbildungen im Text.

Seit der Abhandlung von Hutchinson und Clayton 1919 ist wiederholt bestätigt worden, daß die Cytophaga-Arten nur Zellulose als Kohlenstoffquelle verwerten können. Die Zuckerarten — besonders die reduzierenden — sind nicht nur als Nährstoffe ungeeignet, sondern sogar starke Gifte, die schon in niedrigen Konzentrationen das Bakterienwachstum vollkommen verhindern.



Abb. 1. Junge Kultur auf Zellulose. Zellulosefaser mit Zellen dicht gemustert. Vergr. etwa 1400 mal.

Eine Untersuchung über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrate auf die Zellulosezersetzung eines aus Gartenerde isolierten Cytophagastammes — im folgenden auch „Stamm 3" genannt —, ergab aber von früheren Untersuchungen abweichende Resultate.

Dieser Stamm wurde mikroskopisch als eine mikrocystenbildende Cytophaga erkannt (vgl. Abb. 1 und 2). Auch seine physiologischen Merkmale stimmten mit denen der bisher beschriebenen Arten weitgehend überein — doch mit einer auffälligen Ausnahme. Er verhielt sich nämlich eigenartig gegenüber Glukose, was ihm eine Sonderstellung unter den Cytophagen gibt.

Die Untersuchung, bei der die übliche Methode (Röhrchen mit Nährlösung und Filtrierpapierstreifen) verwendet wurde, hatte kurz zusammengefaßt folgende Ergebnisse.

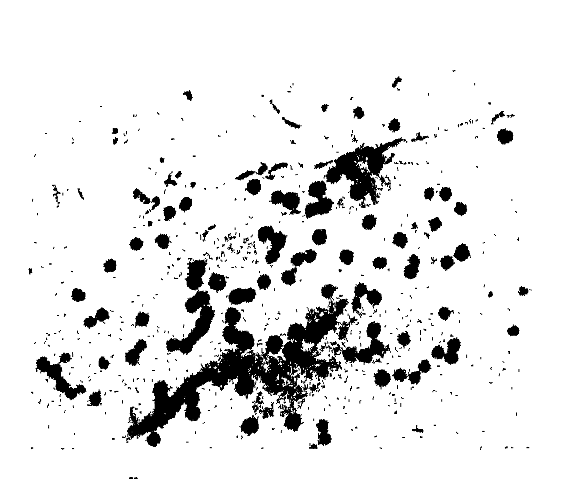
Von Stärke und Dextrin wurde die Zellulosezersetzung erst bei einer Konzentration von 1% etwas verzögert. Saccharose und merkwürdigerweise auch die reduzierenden Zucker, Maltose und Laktose hatten selbst in 1proz. Lösung keinen Einfluß. Xylose, Fruktose und Galaktose hemmten die Zellulosezersetzung in verschiedenem Grade je nach ihrer Konzentration. In den Fällen, wo überhaupt Wachstum stattfand, ging die Zersetzung indessen völlig normal vor sich.

Bei Zusatz von Glukose dagegen erhielten die Kulturen ein ganz anders-

artiges Aussehen. Bei einer Konzentration von 0,5 bzw. 1% entstanden auf dem Papier erhabene Kolonien von eigelber Farbe. Die Zellulose wurde anscheinend nicht angegriffen. Das Papier zerfiel also nicht an der Oberfläche der Lösung, wie dies ohne Glukosezusatz der Fall ist.

Diese Kolonien konnten auf Glukose weitergezüchtet werden, ohne daß die Fähigkeit, Zellulose zu zersetzen, verlorenging. Die auf Glukose gezüchtete Kultur war ebenfalls fähig, auf Zellobiose zu wachsen.

Das mikroskopische Bild wurde bei Glukosezusatz auch verändert. Die Zellen hatten sich vergrößert, und das Chromatin war sehr ungleichmäßig verteilt. Die Übergangsformen zwischen Stäbchen und Mikrocysten erhielten ein sehr mannigfaltiges Aussehen. Typische Mikrocysten kamen nur vereinzelt vor (siehe hierzu die Abb. 1—3).



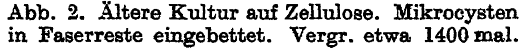


Abb. 2. Ältere Kultur auf Zellulose. Mikrocysten in Faserreste eingebettet. Vergr. etwa 1400 mal.

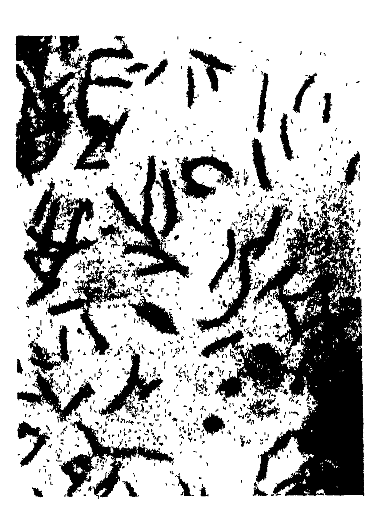


Abb. 3. Kultur auf Glukose. Vergr. etwa 1400 mal.

Diese Ergebnisse stehen gewissermaßen mit den Beobachtungen im Einklang, die Krzemieniewska über die Keimung von Cytophaga-Mikrocysten gemacht hat. Sie schreibt (S. 403): . . . Seule l'influence du dextrose se manifeste d'une manière différente; les cellules . . . sont plus grandes que d'ordinaire et se transforment en bâtonnets considérablement plus gros . . . avec la chromatine agglomérée soit au milieu, soit à un des deux bouts.

Krzemieniewska hat physiologische Untersuchungen über ihre Cytophaga myxococcoides leider nicht unternommen. Es geht also aus ihren Befunden nicht hervor, ob diese Art Glukose auszunutzen vermag. Es scheint diese Möglichkeit nicht ausgeschlossen zu sein. Einen Aufschluß darüber, ob Glukose verbraucht wird oder nicht, läßt sich natürlich nur auf Grund von quantitativen Bestimmungen erhalten. Derartige Versuche sind indessen mit Cytophaga-Kulturen bisher nie ausgeführt worden.

Um einen näheren Einblick in diese Verhältnisse zu bekommen, habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt, über die unten kurz berichtet wird.

Erlenmeyerkolben von 300 ml Inhalt wurden mit 100 ml Nährlösung und 0,5 g Zellulose beschickt und sterilisiert; die Impfung geschah mit 0,5 ml von einer Aufschwemmung eines von Stamm 3 zersetzten Papierstückchens in Wasser. Die ursprünglich von Waksman und Carey angegebene Nährlösung wurde etwas modifiziert und hatte dann die folgende Zusammensetzung:

$(NH_4)_2HPO_4$	2,5 g
KCl	0,5 g
$MgSO_4$	0,5 g
$FeSO_4$	0,01 g
$MnSO_4$	0,001 g
$CaCl_2$	0,02 g
aq. dest.	1000 ml

Durch die Gegenwart von Ammoniumphosphat dürfte diese Lösung besonders günstig sein, da große p_H-Schwankungen vermieden werden.

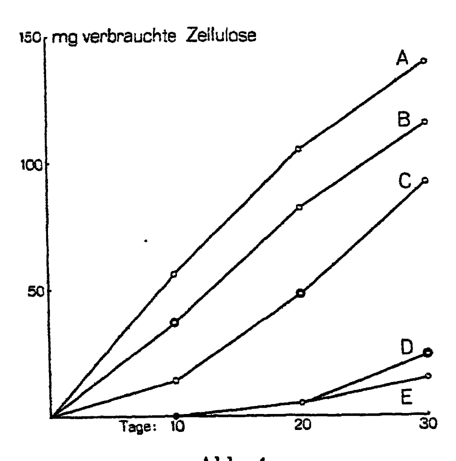


Abb. 4.
Zellulosezersetzung durch Stamm 3. In den Proben A, B, C, D und E sind 0 bzw. 50, 100, 250 und 500 mg Glukose zugesetzt. Anfangs-p_H = 7,3. End-p_H = 6,8 bzw. 6,7, 6,6, 6,3 und 6,2.

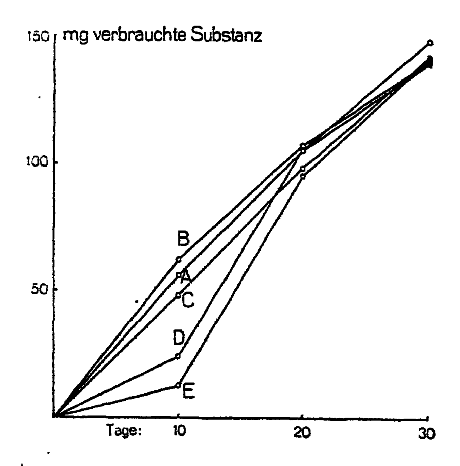


Abb. 5.
Zellulose- und Glukoseabbau durch Stamm 3. Bezeichnungen wie in voriger Abbildung.

Als Zellulosequelle wurde Zellulosewatte gewählt. Dieses zuerst von Walker und Warren vorgeschlagene Material war für die Versuche sehr geeignet, da durch seine lockere Konsistenz eine gute Verteilung der Zellulose in der Lösung ermöglicht wurde. Daher wurde es durchweg verwendet, obwohl es auf Grund eines geringen Gehalts an Verunreinigungen nicht ganz zufriedenstellend war.

In gewissen Zeitabständen wurde in einer Anzahl von Kolben Zellulose und Glukose bestimmt. Der Inhalt jedes Kolbens wurde durch einen Glasfiltertiegel (Jenaer Glas Nr. 1 G 3) abgesaugt. In dem Filtrat wurde das p_H und der Glukosegehalt bestimmt. Der Rückstand wurde mit Salzsäure, Ammoniak, Wasser, Alkohol und Äther ausgewaschen und schließlich bei 103° getrocknet. Die Glukosebestimmungen erfolgten nach der Methode von Bertrand.

Nach dem oben geschilderten Verfahren wurde zunächst die Wirkung von steigenden Mengen Glukose auf das Wachstum studiert. Die Ergebnisse sind in Abb. 4 und 5 dargestellt. Die Punkte der Kurven sind als Mittelwerte von 5—6 Parallelkulturen erhalten worden.

Wie aus den Abbildungen ersichtlich, übt Glukose eine mit steigender Konzentration verzögernde Wirkung auf die Zellulosezersetzung aus. Es geht aus den Kurven weiter sehr deutlich hervor, daß die Glukose fast voll-

ständig verbraucht wird, ehe die Zellulosezersetzung einsetzt. Nachdem die Glukose verschwunden ist (durch Doppelring gekennzeichnet), verläuft der Zelluloseabbau mit derselben Geschwindigkeit wie bei den entsprechenden Versuchen ohne Zusatz von Glukose.

In Abb. 5 ist die gesamte „Bakterientätigkeit", ausgedrückt als Milligramm verbrauchte Substanz, eingetragen worden. Diese Menge setzt sich zusammen aus der Summe der verbrauchten Menge Zellulose und der halben verbrauchten Menge Glukose. Es verhalten sich nämlich, wie aus den Versuchen hervorging, die Abbaugeschwindigkeiten für Glukose und Zellulose ziemlich genau wie 2 zu 1. Es ist auffällig, daß diese Summe, außer bei der ersten Probeentnahme, für sämtliche Glukosekonzentrationen annähernd konstant ist.

Die anfangs hervortretende Hemmung bei höheren Glukosekonzentrationen war einstweilen schwer zu verstehen. Um diese Erscheinung näher klarzulegen, wurde der entgegengesetzte Weg betreten und statt der auf Zellulose gezüchteten Cytophaga eine Kultur benutzt, die 10mal auf Glukose geführt worden war. Jetzt wurde die Entwicklung in Kolben ohne Glukose bzw. mit 500 mg je Kolben verfolgt. Es zeigte sich diesmal, daß die anfängliche Zuwachsgeschwindigkeit auf Glukose keineswegs schlechter als auf Zellulose war (Abb. 6).

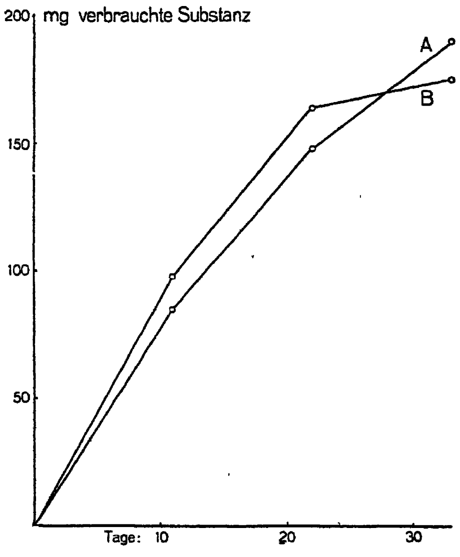


Abb. 6.
Zellulose- und Glukoseabbau durch Stamm 3 (an Glukose angepaßte Kultur). In den Proben A und B sind 0 bzw. 500 mg Glukose zugesetzt. Anfangs-p_H = 7,3; End-p_H = 6,6 bzw. 6,1.

Eine weitere interessante Tatsache ist die Säurebildung im Nährboden. Normalerweise konnte ein schwach aromatischer Geruch wahrgenommen werden. Kulturen mit Zusatz von Glukose hatten einen säuerlichen Geruch; ältere Kulturen rochen schwach nach Valeriansäure. Das p_H wurde bei Glukosezusatz niedriger als in Kulturen ohne Glukose (Abb. 4 u. 6). Dadurch wird die Tatsache erklärt, daß die Zellulosezersetzung in Kolben mit Glukose eher zum Stillstand kommt als in Kolben ohne Glukose. Der optimale p_H-Bezirk liegt nämlich zwischen 6,5 und 8,0. Außerhalb dieser Grenzen wird die Entwicklung verlangsamt.

In der Tat wurden auch flüchtige Säuren in der Lösung nachgewiesen, und zwar in größerer Menge, wenn das Substrat Glukose, als wenn es nur Zellulose enthielt. Somit wird der Befund von Hutchinson und Clayton, die flüchtige Säuren in ihren Kulturen nachwiesen, bestätigt. Später ist dieses Ergebnis seitens mehrerer Forscher (Winogradsky, Loicjanskaja, Walker und Warren) bezweifelt worden. Es ist aber zu bemerken, daß diese Forscher nicht mit mikrocystenbildenden Cytophagen, sondern nur mit Symbiosekulturen gearbeitet haben. Es ist nicht

von der Hand zu weisen, daß das Fehlen von Fettsäuren in diesen Fällen durch die Wirksamkeit der Begleitbakterien erklärt werden könnte.

Es war jetzt von Interesse, die erhaltenen Ergebnisse an anderen Cytophaga-Arten nachzuprüfen. Zu meiner Verfügung stand die von Stapp und Bortels beschriebene Cytophaga globulosa, die mir Herr Oberregierungsrat Dr. C. Stapp freundlichst zugesandt hat, wofür ihm an dieser Stelle verbindlichst gedankt sei.

Da es sich zeigte, daß bei der vorliegenden Untersuchung diese Art besser auf der Nährlösung von Waksman und Carey als auf der A-Lösung von Stapp und Bortels gedieh, wurde die erstere Lösung auch diesmal verwendet. Mit derselben Versuchsmethodik wie oben wurde das Verhalten von Cytophaga globulosa in bezug auf Glukose geprüft. Die Ergebnisse sind in Abb. 7 dargestellt worden.

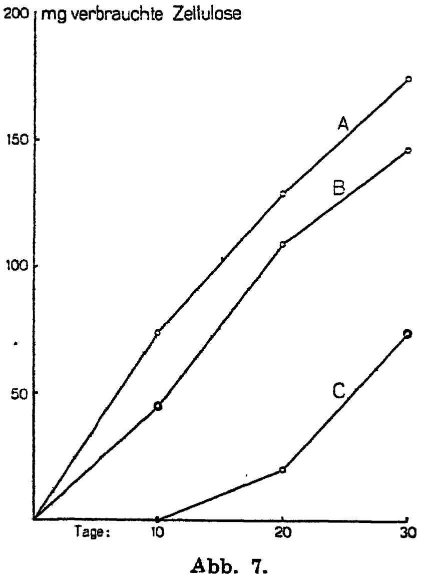


Abb. 7.
Zellulosezersetzung durch Cytophaga globulosa. In A, B und C sind 0 bzw. 50 und 100 mg Glukose zugesetzt. Anfangs-p_H = 7,1; End-p_H = 6,5 bzw. 6,4 und 6,1.

Auch von dieser Art wird Glukose verbraucht. Hier ist aber eine größere Empfindlichkeit gegen Glukose festzustellen. Schon eine Konzentration von 100 mg je Kolben, d. h. 0,1%, wirkt sehr herabsetzend auf die Anfangsgeschwindigkeit des Wachstums, ebenso wie 0,25% auf Stamm 3. Erst allmählich wird die Hemmung überwunden.

Bei Züchtung auf Röhrchen mit Glukose sind in diesem Falle keine erhabenen Kolonien beobachtet worden. Doch ist zu bemerken, daß bei Stamm 3 derartige Kolonien erst bei einer Konzentration von 0,25% an entstanden. Mikroskopisch sind auch bei Cytophaga globulosa große, unregelmäßig geformte Zellen zu sehen. Eine Weiterzüchtung auf Glukosesubstrat ist vorläufig nicht versucht worden.

Wie aus den oben erwähnten Befunden hervorgeht, ist Glukose in kleinen Mengen für die zwei untersuchten Cytophaga-Arten als Kohlenstoffquelle verwertbar. Daher dürfte die Möglichkeit nicht ganz ausgeschlossen sein, daß Glukose ein Zwischenprodukt bei der Zellulosezersetzung sein könnte. Wenn Glukose überhaupt in den Kulturen auftritt, wird sie gleich weiter verarbeitet.

Die morphologischen Beziehungen zwischen Cytophaga-Arten und Myxobakterien sind mehrmals hervorgehoben worden. Meine bisherigen Ergebnisse deuten darauf hin, daß Stamm 3 den Myxobakterien noch nähersteht als die bis jetzt beschriebenen Arten; eine eingehende morphologische Untersuchung steht aber noch aus.

Da unter anderem die Untersuchungen von H. und S. Krzemieniewski das Vorkommen zellulosezersetzender Myxobakterien gezeigt

haben, ist hiermit auch eine auffällige physiologische Verwandtschaft nachgewiesen worden. Die für die Cytophagen als typisch angesehene Substratspezifität ist aber unter den Myxobakterien nicht vorhanden. Die von H. und S. Krzemieniewski studierten Sorangium compositum und S. nigrescens können z. B. außer Zellulose auch Glukose, Xylose, Maltose und Dextrin gut verwerten.

Stamm 3 kann auf Zellulose, Zellobiose und Glukose, nicht aber auf den übrigen Zuckerarten gezüchtet werden und dürfte daher eine Art darstellen, die eine gewisse Zwischenstellung zwischen den beiden erwähnten Gruppen einnimmt.

Zusammenfassung.

1. Ein zellulosezersetzender Cytophaga-Stamm („Stamm 3") wurde isoliert. Es wurde gefunden, daß dieser gegenüber Glukose auf eigenartige Weise reagierte.

2. Eine Methodik für das quantitative Studium des Zellulose- und Glukoseverbrauchs wird kurz beschrieben.

3. Aus Versuchen, bei denen Zellulose und Glukose gleichzeitig zugesetzt worden war, ging hervor, daß Glukose zuerst verbraucht wird. Die Zellulosezersetzung wird dadurch verzögert. Erst wenn die Glukose größtenteils verbraucht worden ist, wird auch die Zellulose abgebaut.

4. In den Kulturen wurden flüchtige Säuren nachgewiesen.

5. Versuche mit Cytophaga globulosa Stapp und Bortels ergaben ähnliche Resultate, obwohl gewisse Unterschiede zu verzeichnen sind.

6. Die Beziehungen zu den Myxobakterien werden nochmals hervorgehoben.

Literatur.

Hutchinson, H., and Clayton, J., Journ. of Agric. Sci. Vol. 9. 1919. p. 143. — Krzemieniewska, H., Arch. f. Mikr. Bd. 4. 1933. S. 394. — Krzemieniewski, H. und S., Bull. Acad. Polon. Cl. Sci. Math. et Nat., Sér. B. 1937. p. 33. — Loicjanskaja, M. S., Compt. Rend. Acad. Sci. URSS. Vol. 14. 1937. p. 381. — Stapp, C. und Bortels, H., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 90. 1934. S. 28. — Waksman, S. A., and Carey, C., Journ. of Bact. Vol. 12. 1926. p. 87. — Walker, E., and Warren, F., Biochem. Journ. Vol. 32. 1938. p. 31. — Winogradsky, S., Ann. Inst. Pasteur. T. 43. 1929. p. 549.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Filipjev, I. N., and **Schuurmans-Stekhoven, J. H.,** Manual of agricultural Helminthology. 878 S., 460 Abb. Leiden (Verl. E. J. Brill) 1941. Subskriptionspreis geb. 18 (18,85 RM.), nach Erscheinen 20 Gulden.

Zum erstenmal wird mit diesem Handbuch der Wissenschaft ein Werk vorgelegt, das die in der Landwirtschaft und im Gartenbau auftretenden Nematoden unter Berücksichtigung aller wichtigeren Arbeiten, namentlich auch der russischen Literatur, eingehend behandelt. Die Verff. geben im ersten Abschnitt einen allgemeinen Überblick über den inneren Bau sowie über Lebensweise, Entwicklung und Verbreitung der Nematoden. Dann folgen systematische Darlegungen, Bestimmungstabellen und eine Besprechung der technischen Methoden für das Sammeln und Präparieren. Den Hauptteil des Buches nimmt der 4. Abschnitt ein. Er handelt von den pflanzenparasitischen Nematoden, die gattungsweise aufgeführt und je nach ihrer Bedeutung eingehend oder kürzer besprochen werden. Sämtliche bisher auftauchenden Probleme werden erörtert. Große Beachtung wird dabei vor allem dem Wirtspflanzenproblem beigemessen. Weitere Kapitel behandeln die Nematoden als Insektenparasiten und die Gordiiden (Nematomorphen). Das einschlägige Schrifttum ist jedem Abschnitt beigefügt.

Das Werk, das aus der von Filipjev 1934 in russischer Sprache herausgegebenen Ausgabe entstanden ist, gibt dem Pflanzenpathologen über alle Fragen auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Helminthologie erschöpfend Auskunft. Reichliches und gutes Bildmaterial dient zur Erläuterung der sehr wechselvollen pathologischen Erscheinungen und der oft nur geringfügigen Unterschiede im Bau der einzelnen Nematodenarten.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Dahmen, H., Lehrbuch der Veterinär-Hygiene. 274 S., 62 Textabb. Berlin (Verlag Paul Parey) 1941. Preis geb. 17,60 RM.

Das Lehrbuch vermittelt dem Leser die Umwelt unserer Haustiere, enthält im einzelnen Abschnitte über Sonne, Erde, Luft, Klima, Boden, Wasser, Abwasser, Fütterung, Weide, Stall. Die Umweltfaktoren sind in Gemeinschaft mit den Nahrungsbedingungen als maßgebend für die Gesundheit, Gesunderhaltung und Abwehrbereitschaft der Tiere eingehend geschildert. Besonders beachtlich ist das Kapitel Biologischer Raum, in dem dargelegt ist, wie sehr die Tiere von der besonderen standortbedingten Eigenart der biotischen und abiotischen Umweltfaktoren beeinflußt werden. Diesen von Natur aus gegebenen Bedingungen folgen Fütterung, Weide und Stall, also vom Menschen veränderte und weiterhin veränderliche Faktoren, die hier unter dem Gesichtspunkt der Gesunderhaltung des Tieres betrachtet werden. In dem Abschnitt Stall wird vor allem dem Wärmehaushalt und dem Behaglichkeitsproblem die größte Bedeutung beigemessen. Hierbei wird auf die Möglichkeit weitgehender Verbesserungen hingewiesen.

Ein weiteres Kapitel behandelt die Umweltschäden und deren Abwehr. Die bisher bekannt gewordenen Schäden werden unter Beibehaltung der Einteilung des anderen Kapitels über die Umwelt zusammengestellt. Die Schädigungen, die den Haustieren durch Sonne, Luft, Boden, Wasser drohen, werden beschrieben. Bei Fütterung sind die Schadeinflüsse erwähnt, die durch Über- und Unterernährung, sowie Futterwechsel, Fütterungsinfektion, Fütterungsinvasion und durch Giftpflanzen entstehen können. In einem weiteren

Unterabschnitt werden die Gefahren im Stall geschildert, die vor allem in den vorbereitenden Schädigungen zur Infektion und in den Stallseuchen und Kontaktinfektionen bestehen. Abschnitte über Haltung und Pflege, Streu und Dünger vervollständigen die Aufgaben der Gesunderhaltung unserer Haustiere. Der Bekämpfung bereits ausgebrochener Schäden sind die Abschnitte Desinfektion, Schädlingsbekämpfung und Tierkörperbeseitigung gewidmet.

Den einzelnen Abschnitten sind die notwendigen Untersuchungsmethoden beigegeben, mittels derer zu entscheiden ist, was im Gefahrenfall zunächst zu tun ist.

Gute Abbildungen erläutern den Text, der kurz, übersichtlich und gleichwohl sehr reichhaltig ist. Die Neuerscheinung ist von größtem Interesse für den Studierenden, den Tierarzt und den Landwirt; sie bietet zugleich wegen vorzüglicher Behandlung ökologischer Probleme dem angewandten Zoologen wertvolle Anregungen. Ferner dürfte das Werk von großer Bedeutung für die richtige Durchführung von Versuchstierhaltungen einschlägiger wissenschaftlicher Institute sein. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Bergdolt, E., Karl von Goebel, ein deutsches Forscherleben in Briefen aus sechs Jahrzehnten 1870—1932. 273 S. Berlin (Ahnenerbe-Stiftung Verlag) 1941. Preis 6,50 RM.

Wer den langjährigen Münchener Botaniker, den Schöpfer des botanischen Gartens in Nymphenburg, Karl von Goebel (1855—1932) gekannt hat, wird immerhin erstaunt sein, ein wie klares Bild seiner Persönlichkeit, seiner kämpferischen Einstellung, seiner ungemein vielseitigen fachlichen Interessen und seiner großen Allgemeinbildung die Briefe vermitteln.

Seine zahlreichen Auslandsreisen, so nach Ceylon, Indien, dem Malaiischen Archipel, Venezuela, Guyana, Australien, Neuseeland und Brasilien und im hohen Lebensalter nochmals nach Java und Sumatra geben ihm Gelegenheit, die Pflanzenwelt in ihrem Formenreichtum und ihrer Formenschönheit zu erkennen und bringen ihn zu der Überzeugung, daß diese morphologischen Kunstwerke nicht nur teleologisch zu deuten sind. Groß ist die Zahl der Probleme, die ihn beschäftigen, und in strenger Wissenschaftlichkeit geht er ihnen nach unabhängig davon, ob er hierbei Anerkennung in Fachkreisen findet oder nicht.

Wie er über seine eigenen Veröffentlichungen urteilt, dafür ein Beispiel: „Mein Buch werden wohl nur sehr wenige Menschen lesen. Ich habe es auch nur geschrieben, weil ich finde, daß der Verf. eines Buches immer am meisten dabei lernt."

Als 26 jähriger sagt Goebel: „Meiner Ansicht nach liegt doch in wissenschaftlichen Leistungen, die in den Entwicklungsgang ihrer Zeit eingegriffen haben, neben ihrem rein wissenschaftlichen Gehalt, der ja teilweise längst Gemeingut geworden sein kann, eine persönliche Bedeutung."

Im gleichen Jahre heißt es in einem Brief an Sachs: „Von B. aus bin ich als streitsüchtiges Individuum geschildert worden, mit dem nicht auszukommen sei! Das hat mich aber nicht abgehalten, meine Meinung auch ferner offen zu sagen. . . ."

Noch als 70 jähriger beginnt Goebel mit Untersuchungen auf einem ihm etwas fernerliegenden Arbeitsgebiet: „Ich suche meine Buitenzorger Materialien zu verarbeiten und stecke jetzt tief in den Flechten, die mich zur Strafe dafür, daß ich mich mit ihnen früher gar nicht befaßte, gefaßt haben."

Weitere 5 Jahre später schreibt Goebel: „Unglücklicherweise bin ich in den Ozean der Farn-Verwandtschaften geraten. Das ist ein, um mich kolloidchemisch auszudrücken, „polydisperses" System, in welchem einen Ankergrund zu finden, mehr als schwierig ist. Man sollte kaum glauben, daß es in der Botanik ein noch so wenig beackertes Gebiet gibt."

Solche und noch viele andere, häufig bedeutsame und immer interessante Bemerkungen über seine wissenschaftlichen Untersuchungen finden sich in diesen Briefen, deren Auswahl und Zusammenstellung der Herausgeber so geschickt getroffen hat, daß die Lektüre nicht nur den großen Kreis der ehemaligen Goebel-Schüler, sondern jeden Naturwissenschaftler fesseln dürfte.

Stapp.

Allgemeines und Methodisches.

Dold, H. und **Feigs, G.**, Über den Mangel an antibakteriellen Hemmungsstoffen (Inhibinen) in den Sekreten geschlossener Körperhöhlen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 122. 1940. S. 692—701.)

Während die mit der Außenwelt in Berührung kommenden Sekrete (Speichel, Nasensekret, Bronchialsekret, Milch) gegenüber den verschiedensten Bakterienarten regelmäßig eine mehr oder weniger starke, nicht auf Bakterienantagonismus zurückführbare Hemmungswirkung (Inhibinwirkung) entwickelten, ließen die Sekrete der mit der Außenwelt nicht in Berührung kommenden geschlossenen Körperhöhlen (Peritoneal-, Pleura-, Perikardsekret, Kammerwasser des Auges) eine solche Wirkung in der Regel vermissen.

Rodenkirchen (Dresden).

Dold, H. und **Ochsenreiter, F.**, Untersuchungen über die tuberkelbazillenfeindliche Wirkung des Speichels im Vergleich zu der des Blutserums. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 123. 1940. S. 51—58.)

Der menschliche Speichel und in geringem Umfang das Blutserum besitzen gegenüber Tuberkelbakterien wachstumshemmende Wirkung. Das wirksame Agens erwies sich als thermostabil und unterschied sich dadurch grundlegend von den im Speichel und in anderen Sekreten festgestellten Hemmungsstoffen, die gegen nichtsäurefeste Bakterienarten gerichtet sind.

Rodenkirchen (Dresden).

Neufeld, F. und **Bär, F.**, Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sulfonamide. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 123. 1940. S. 116—125.)

Die von Domagk als chemotherapeutisch besonders wirksam erkannten Sulfonamidkörper (Prontosil, Uliron, Albucid usw.) erfahren im tierischen Organismus und ebenso bei geeigneter Versuchsanordnung während längerer Bebrütung mit defibriniertem Blut in vitro eine Umwandlung bisher unbekannter Art. Dadurch werden sie befähigt, gewisse Erreger (ohne sie in ihrer Lebensfähigkeit in irgend erkennbarer Weise zu schädigen) in derselben Weise zu verändern, wie es die von Denys entdeckten Bakteriotropine (die spezifischen phagozytoseerregenden Antikörper der antibakteriellen Immunsera) tun: sie bereiten die Bakterien zur Phagozytose vor.

Die von Domagk eingeführten Chemotherapeutika sind die ersten chemischen Mittel, für die eine solche Wirkung nachgewiesen ist.

Rodenkirchen (Dresden).

Imschenetzki, A. A., Die Veränderlichkeit der Bakterien. I. Der Nährboden und die Bildung von faltigen Formen bei Sarcinen. (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 3—13.) [Russisch.]

Versuche mit *Sarcina flava* de Bary zeigten, daß die Zusammensetzung des Nährbodens die Form der Kolonien beeinflussen kann: auf Nährboden von bestimmter Zusammensetzung erhielt man faltige Kolonien bei der glatten Rasse, und glattes Wachstum bei einer stabilen R-Form des Mikroben. *M. Gordienko (Berlin).*

Loichinger, E., Versuche zur Sterilisation von Wasser durch Filtration. (Tageszt̄g. f. Brauerei. Bd. 39. 1941. S. 239—240.)

Die Berkefeld-Filter G. m. b. H. konstruierte einen Filter, dessen wirksamer Teil aus mehreren an einem Ende geschlossenen, am anderen Ende mit einem Auslaufstutzen versehenen Hohlzylindern aus gebrannter Kieselgur besteht. Bei der Filtration von Wasser durch die Wandungen der Filterzylinder bleiben Bakterien und Schmutzstoffe auf der Oberfläche des Filters zurück, während das reine Wasser die Poren durchdringt und hierdurch geklärt und entkeimt wird. Nunmehr liegt eine neue Anordnung dieser Filterkerzen vor, welche die Bedienung vereinfacht. Der Filter besteht aus einer Anzahl von kreisrunden Rahmen, die an beiden Seiten durch Deckelplatten abgeschlossen sind. In diese Rahmen sind je 6 Filterkerzen eingeschraubt, die von dem zu filtrierenden Wasser von außen nach innen durchdrungen werden; das Wasser sammelt sich in jedem Rahmen in einer Filtratkammer, aus der es durch einen Sammelkanal abgeführt wird. Zur Sterilisation des Filters dient ein besonderes Sterilisiersalz, mit dessen Lösung der Filter täglich gefüllt und längere Zeit stehengelassen wird.

Verf. stellte mit einem derartigen Filter aus drei Rahmen mit 18 Kerzen und einer Stundenleistung von 750 l/Std. Filtrationsversuche an zwei Wässern an. Das erste war ein natürlich infizierter Pumpbrunnen mit einem Keimgehalt von durchschnittlich 25 Organismen je Kubikzentimeter. Nach dem Filter war das Wasser keimfrei, erst nach 5 Std. erniedrigte sich die Filterleistung um etwa ein Sechstel. Ein zweiter Versuch wurde mit einem künstlich infizierten Wasser durchgeführt, das Hefen, Essigbakterien, Termobakterien, Milchsäurebakterien und Pediokokken in reichlicher Menge enthielt. Auch in diesem Fall konnte die entkeimende Wirkung des Filters als sehr befriedigend bezeichnet werden. *Heuß (Berlin).*

Tscherwenoff, G., Methode zum mikroskopischen Nachweis von Bakterien im Wein. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 54. 1941. S. 199.)

Schüttelt man 1 Teil Wein mit 2 Teilen Azeton, so bildet sich nach kurzer Zeit ein dem Aluminiumhydroxyd ähnlicher Niederschlag, der sich beim Zentrifugieren absetzt. Die Flüssigkeit wird abgegossen, der weißgelbliche Niederschlag zwei- bis dreimal vorsichtig mit destilliertem Wasser abgespült, dann in wenig destilliertem Wasser suspendiert. Ein Tropfen davon wird auf dem Deckglas getrocknet und wie üblich gefärbt. Auf diese Art lassen sich auch Mikroorganismen im Wein feststellen, die ihrer geringen Menge wegen der Untersuchung entgehen und sich auch beim Zentrifugieren nicht absetzen. *Heuß (Berlin).*

Mündel, O., Über das Keimtötungsvermögen von heißen Formaldehyddämpfen. (Nebst Untersuchungen über die Prüfungstechnik der Formaldehydwirkung.) (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 126. 1941. S. 87—112.)

Während Formaldehyddämpfe bei Zimmertemperatur nur eine oberflächliche Wirkung entfalten, zeigen heiße Formaldehyddämpfe starke Tiefenwirkung, selbst gegenüber sehr resistenten Sporen. Beim Zusammenwirken von Formaldehyd und Wasserdämpfen kommt letzteren nur eine unterstützende Wirkung zu. Für die Neutralisation von Formaldehydresten eignen sich Ammoniak und Natriumsulfit. *Rodenkirchen (Dresden).*

Lynen, F., Die Pasteursche Reaktion. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 54. 1941. S. 239.)

Beim Zutritt von Sauerstoff zu einer in Zuckerlösung anaerob gärenden Hefe wird die Vergärung des Kohlenhydrats gebremst und Sauerstoff verbraucht. An Stelle der Gärung tritt die Atmung. Der Totalumsatz an Kohlenhydrat ist unter anaeroben Bedingungen wesentlich größer als unter aeroben. Bei dem Übergang der Hefe von der Gärung zur Atmung sinkt also der Zuckerverbrauch. Der Vorgang ist als Pasteursche Reaktion bekannt. In dem Augenblick, da durch die Sauerstoffzufuhr die Atmung einsetzt, wird außer durch Gärung auch noch durch die Atmung anorganisches Phosphat verbraucht. Nachdem die Dephosphorylierung, die das anorganische Phosphat liefert, mit unveränderter Geschwindigkeit weiterläuft, tritt alsbald eine Abnahme der Phosphatkonzentration ein. Dadurch wird die Phosphoglyzerinaldehyddehydrierung und damit die Gärung verlangsamt. Erst nach Erreichung des Gleichgewichts zwischen Phosphorylierung und Dephosphorylierung bei niedrigerer Phosphatkonzentration kommt die weitere Phosphatabnahme zum Stillstand. Durch die Atmung wird also die Phosphatkonzentration erniedrigt und damit die Gärung zurückgedrängt, was sich nach außen hin durch die Verringerung des Kohlenhydratumsatzes, d. h. durch die Pasteursche Reaktion zu erkennen gibt. Damit steht in Übereinstimmung, daß bei Heferassen von geringer Atmung, aber großem Gärvermögen (z. B. Bierhefe), der zusätzliche Phosphatverbrauch durch Atmung nur sehr gering ist und daher auch die Pasteursche Reaktion nur geringen Umfang hat. Die Pasteursche Reaktion tritt auch bei tierischem Gewebe in Erscheinung. Zur Erklärung der Lebensvorgänge der Zelle ist neben dem Wielandschen Prinzip der Wasserstoffverschiebung das Prinzip der Phosphorsäureverschiebung wesentlich. *Heuß (Berlin).*

Fedorow, M. W., Neue Modifikation der Methodik steriler und monobakterieller Kultur höherer Pflanzen. (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 81—96.) [Russisch.]

Verf. legte seiner Methodik die Methode von I. S. Schulow zugrunde, die er dahin modifizierte, daß er die zylindrisch-konische Röhre durch einen neuen Typ der Vegetationsröhre ersetzte, die sich zur Aufkeimung der Samen sowie zur Züchtung der Pflanzen eignet. Die zylindrischen Gefäße von Schulow wurden durch gewöhnliche Gefäße für Wasserkulturen mit breitem Hals ersetzt. Weiter wurde eine Vorrichtung zur Entnahme der Proben von Nährsubstrat zur beliebigen Zeit konstruiert.

M. Gordienko (Berlin).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Weigmann, F. und **Hölzl, H.**, Untersuchungen über die antagonistische Wirkung von Streptokokken gegenüber Diphtherie- und anderen Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 122. 1940. S. 673—683.)

Auf Agarplatten entwickelten hämolytische und vergrünende Streptokokken gegenüber Diphtheriebakterien ausgesprochenen Antagonismus; Mikrokokken und Heubazillen wurden weniger stark gehemmt. Die Hemmung machte sich auch durch eine Cellophanschicht hindurch bemerkbar. Bei längerer Fortzüchtung, durch Altern, Filtrieren, Erwärmen und Zentrifugieren ging die Wirkung verloren. Auch verunreinigte Streptokokken-Kulturen entwickelten keine Hemmung mehr. *Rodenkirchen (Dresden).*

Engel, Über Atmungsvorgänge bei nitrifizierenden Bakterien. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 54. 1941. S. 182.)

Da andere Stoffwechselvorgänge nicht beobachtet werden konnten, hielt man die Nitrifikation für die Atmung der Nitrifikationsbakterien. In Wirklichkeit atmen aber auch diese Organismen normal, indem sie Sauerstoff aufnehmen und dafür Kohlensäure abgeben. Der Beweis für das Vorhandensein dieses Gaswechsels, bei dem die durch Chemosynthese erworbenen organischen Zellinhaltsstoffe wieder abgebaut werden, läßt sich nur durch Anreicherung der Bakterien in ungewöhnlichen Mengen und längere Beobachtung nach beendigter Nitrifikation erbringen. Die Atmungsintensität ist so geringfügig, daß die Bakterien jahrelang ohne Nitrifikation leben können. Es sind bei den Salpeterbakterien drei Vorgänge streng auseinanderzuhalten: 1. die Nitrifikation, die die Energie zum autotrophen Leben liefert. 2. Die Chemosynthese; dabei wird die Kohlensäure reduziert und in organische Stoffe übergeführt. 3. Die Atmung. Die organischen Stoffe werden wieder abgebaut und die dabei freiwerdende Energie ist die Betriebsenergie, die jeder der Organismen zum Leben unbedingt braucht. *Heuß (Berlin).*

Ehrismann, O., Über das Verhalten aerober und anaerober Bakterien gegenüber Askorbinsäure. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 123. 1940. S. 14—44.)

Während obligat anaerobe Bazillen durch Askorbinsäure in ihrem Wachstum begünstigt werden, tritt bei obligaten Aerobiern (festgestellt an Vibrionen, Pseudodiphtheriebakterien und Milzbrandbazillen) durch das Vitamin Wachstumshemmung ein; fakultative Anaerobier werden in ihrem Wachstum nicht beeinflußt.

Bezüglich des Einflusses verschiedener Bakterienarten auf den Askorbinsäureabbau (Oxydation) wurde festgestellt, daß ruhende Bakterien häufiger eine schützende als zerstörende Wirkung ausüben. Diese Schutzwirkung ist besonders groß bei Gegenwart anderer oxydabler Substanzen wie Natriumlaktat und Traubenzucker. Reduzierende Substanzen als Ursache der Schutzwirkung waren nicht nachweisbar. Während der Vermehrung blieb die Schutzwirkung der Bakterien aus, vielmehr vermochten 6 (davon 5 Coliarten) von 35 untersuchten Kulturen während der Vermehrung Askorbinsäure nahezu vollständig zu zerstören.

Während der Vermehrung obligater Anaerobier war kein stärkerer Askorbinsäure-Verbrauch feststellbar als durch Aerobier.

Rodenkirchen (Dresden).

Mel'nikowa, A. A. und **Trofimowa, Je. I.**, Aktivierung der Anhäufung der Zitronensäure durch Filme von Aspergillus niger. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 6. 1940. S. 558—569.) [Russisch.]

Bei der Vergärung der Nährsubstrate und dann der Zuckerlösung durch Aspergillus niger 1a erwies sich als die beste Stickstoffquelle KNO_3 und NH_4NO_3, während $NaNO_3$ sich weniger günstig zeigte. In Zuckerlösung übte KNO_3 in Mengen von 0,1% eine aktivierende Wirkung auf die Anhäufung der Zitronensäure aus; der Stamm L reagierte jedoch auf KNO_3 gar nicht, sondern nur auf NH_4Cl in Mengen von 0,2%. Bei der aktivierenden Wirkung von KNO_3 spielt die Hauptrolle das Kation K. Am vorteilhaftesten erwies sich ein dreimaliger Wechsel der 20 proz. Zuckerlösung im Laufe von 12 Tagen (bei Zugabe zur Lösung von 0,1% KNO_3); die Gesamtausbeute an Zitronensäure stieg dabei um 37,7% gegen einen zweimaligen Wechsel im Laufe von 12 Tagen. Filme zeigen beim Wechsel der Zuckerlösung nach je 4 Tagen keine Schwächung der Aktivität der Säurebildung im Laufe von 20 Tagen. *M. Gordienko (Berlin).*

Imschenetzki, A. A. und **Ssolnzewa, L. I.**, Symbiose der Zellulose- und Stickstoff-fixierenden Bakterien. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 9/10. 1940. S. 789—802.) [Russisch.]

Gemeinsame Reinkulturen von Zellulosemyxobakterium Myxococcus Hutchinsonii und Azotobacter chroococcum bzw. Bact. radicicola zeigten, daß die stickstoffixierenden Bakterien sich unter den Symbiosebedingungen entwickeln. Diese Entwicklung ist mit unmittelbarem Verbrauch der sich in der Kultur bildenden Hydrolyseprodukte der Zellulose verbunden. In toten Kulturen von Myxococcus Hutchinsonii entwickelt sich Azotobakter nicht. Gegenwart von Azotobakter in Myxokokkenkulturen beschleunigt den Prozeß der Zellulosezersetzung nicht. Bei seiner Entwicklung verwertet Azotobakter vor allem organische Säuren, sodann Glukose; Zellobiose wird von Azotobakter nicht assimiliert. Bei der Entwicklung in den die Gärprodukte der Zellulose enthaltenden Medien fixiert Azotobakter keinen Stickstoff.

M. Gordienko (Berlin).

Beresnewa, W. N., Die Zersetzung der Eiweißstoffe durch die zymogene Mikroflora. (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 42—48.) [Russisch.]

An der Spaltung der Eiweißstoffe beteiligen sich verschiedenartige Mikroorganismen; im frühen Spaltungsstadium sind es hauptsächlich Stäbchen der Gattung Flavobacterium sowie Mikrokokken, in späteren Stadien (frühestens 13 Tage nach der Assimilation durch die zymogene Mikroflora) tritt aktiv Protaminobacter auf.

M. Gordienko (Berlin).

Steiner, M., Zur Verwendung von Permutit bei Stoffwechselversuchen mit Mikroorganismen. (Biochem. Ztschr. Bd. 307. 1941. S. 330—332.)

Da für die Bildung von Eiweiß reichliche Ernährung der Zellen mit Stickstoff und für die Bildung von Fett mangelhafte Stickstoffversorgung Voraussetzung ist, kam es darauf an, bei der Fettsynthese durch Endomyces vernalis dem Pilz während der ganzen Kulturdauer nur die jeweils unbedingt notwendigen Stickstoffmengen zur Verfügung zu stellen.

Dieses Ziel wurde in hervorragender Weise mit Permutit als fester Unterlage für die Nährlösung erreicht. Seine Austauschfähigkeit bewirkt eine kontinuierliche Sorption des Ammoniumions, von dem nur so viel wieder freigegeben wird, wie der Pilz gerade aufnimmt. Das gilt nicht nur für Ammonium als Stickstoffquelle, sondern auch für Harnstoff und Asparagin, woraus geschlossen wird, daß Endomyces aus den organischen Verbindungen zunächst Ammon abspaltet und dieses dann assimiliert. An Hand von Analysen wird ganz eindeutig dargetan, daß mit Permutit anstatt Quarzsand der Stickstoffgehalt der Pilzmasse sinkt, der Fettgehalt dagegen bis auf das Doppelte und Dreifache ansteigt. Die gesamte Pilzernte wird dabei kaum vermindert, und auch der Verbrauch an Energiematerial ist in beiden Fällen ungefähr gleich. Somit liefert Permutit auch einen wesentlich günstigeren Fettkoeffizienten. Die praktische Bedeutung des Permutitverfahrens dürfte klar sein.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Kozlowa, Je. I., Umwandlungen der Essigsäure bei Aceton-Aethylalkoholgärung in Abhängigkeit von Zucker in Substraten. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 4. 1940. S. 355—360.) [Russisch.]

Die äußerste, die Aceton-Aethylalkoholgärung noch nicht beeinflussende Konzentration der Essigsäure liegt zwischen 0,24—0,48%. Die Essigsäure wird nur dann vergoren, wenn sie zu den die Kohlehydrate enthaltenden Substraten zugegeben wird; sie wird hauptsächlich zu Aceton, zum Teil zu Aethylalkohol vergoren. Diese Befunde widersprechen dem Schema der Acetonbildung nach Bakony.

M. Gordienko (Berlin).

Zalesskaja, M. I., Bildung von Fuselölen bei der alkoholischen Gärung. (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 97—116.) [Russisch.]

Fuselöle, die man bis jetzt als ein Nebenprodukt der alkoholischen Gärung von Zucker betrachtete, stellen in Wirklichkeit das Hauptprodukt eines anderen Prozesses dar, und zwar der Vergärung der Aminosäuren. Der Chemismus der Bildung von Fuselölen, die Bildung von Fuselölen bei der Vergärung von Substraten mit verschiedenen N-Formen wird besprochen.

M. Gordienko (Berlin).

Rotmistrow, M. N. und Tscherbakowa, I. A., Die Vergärung der Kohlenhydrate durch die Erreger der anaeroben Zellulosezersetzung. (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 49—60.) [Russisch.]

Die Erreger der anaeroben Zellulosegärung besitzen Fermente, die Zellulose, Stärke, Dextrin, Maltose, Saccharose, Laevulose, Glukose und Arabinose zu vergären vermögen. Bei der Vergärung der aufgezählten Kohlenhydrate häufen sich die gleichen Gärprodukte an, jedoch in verschiedenem Verhältnis; ebenso stehen bei der Vergärung von ein und demselben Kohlenhydrat durch verschiedene Bakterienstämme die Gärprodukte in verschiedenem Verhältnis zueinander. Die Anhäufung von Essig-, Butter- und Milchsäure hängt von dem Gehalt an Zucker im Substrat ab; die maximalen Mengen von Essig- und Buttersäure wurden bei Saccharose erzielt. Es besteht eine umgekehrte Korrelation zwischen der Anhäufung von Butter- und Milchsäure usw. Verf. kommt zu der Schlußfolgerung, daß zwischen den

Erregern der thermophilen Zellulosegärung und typischen Buttersäurebakterien keine morphologischen und physiologischen Unterschiede bestehen, d. h. daß die Zellulosegärung durch banale Arten der Buttersäurebakterien hervorgerufen wird. *M. Gordienko (Berlin).*

Hartelius, V. und Nielsen, N., Bildung von Hefewuchsstoff durch Erwärmung von Zucker mit Ammoniumhydroxyd. (Biochem. Ztschr. Bd. 307. 1941. S. 333—340.)

Die noch wenig geklärte Entstehung von Hefewuchsstoff beim Erwärmen von Zuckern mit Ammoniumsalzen organischer Säuren wurde erneut untersucht, und zwar galt es, die Rolle des organischen Säurerestes zu klären. Mit Ammoniumhydroxyd wurde ebensoviel Wuchsstoff gebildet wie mit Ammoniumtartrat. Die Reaktion verlief sogar noch schneller, ohne daß am Ende mehr Wirkstoff gebildet worden wäre. Auch bedurfte es keiner so starken Erwärmung wie bei Verwendung von Ammoniumtartrat. Die Beschleunigung dürfte kaum auf den hohen p_H-Wert zurückzuführen sein, da Erhitzen des Zuckers mit einer entsprechenden Menge Natronlauge keinen Wuchsstoff lieferte. Hieraus wird geschlossen, daß die Gegenwart von Ammoniumionen notwendig ist, zumal die Wuchsstoffbildung aus Ammoniumtartrat und Glukose mit steigendem p_H zunimmt. Der organische Säurerest ist jedoch nicht ganz bedeutungslos. Vielmehr können manche Säurerestionen die Entstehung des Wuchsstoffes verhindern, andere wiederum die Bildung wachstumshemmender Stoffe. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Yamasaki, I., Über die Flavingärung der Aceton-Butylalkoholbakterien. IV. (Biochem. Ztschr. Bd. 307. 1941. S. 431—441.)

Der erstmalig gelungene Nachweis von Lactoflavin als Bakterienfarbstoff in Getreidemaische, die durch Clostridium acetobutylicum vergoren wurde, bietet eine neue Möglichkeit zur Gewinnung von B_2-Vitamin auf biologischem Wege. Als Nährsubstrat kann anstatt Reismaische auch Gerstenmaische sowie Molke und Hefewasser verwendet werden. Wichtig ist die rechtzeitige Zugabe von Calciumcarbonat, durch das die Azetonbildung zugunsten der Flavinsynthese unterdrückt wird. Eisen wirkt als spezifisches Hemmungsmittel für die Flavingärung. Beide Stoffwechselrichtungen, die der Lactoflavinbildung und die der Acetonbildung, verlaufen weitgehend unabhängig voneinander. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Dam, H., Glavind, J., Orla-Jensen, S. und Orla-Jensen, A. D., Bildung von Vitamin K in Colibakterien auf synthetischem Substrat. (Die Naturwissensch. Jahrg. 29. 1941. S. 287—288.)

Mit der Feststellung, daß Coli-Bakterien im synthetischen Nährmedium, das als einzige organische Bestandteile Glukose, Asparagin und Citrat enthielt, K-Vitamin bilden, muß die Frage, ob die Bakterien hierzu ein Provitamin benötigen, verneint werden. Das Vitamin, das in den geernteten Bakterien reichlich vorgefunden wurde, war weder im ursprünglichen Substrat noch im Kulturfiltrat nachzuweisen. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Knobloch, H. und Mayer, H., Über die Bildung von d-Glucon-, d-Mannon- und d-Galaktonsäure durch Aspergillus niger in Schüttelkultur. (Biochem. Ztschr. Bd. 307. 1941. S. 285—292.)

Von 42 Aspergillus niger-Stämmen bildeten 34 in Schüttel-

kultur Glukonsäure aus Glukose, Maltose, Saccharose und aus Stärke. Auch Mannon- und Galaktonsäure konnten so und ebenfalls in Oberflächenkulturen erstmalig nachgewiesen werden. Laktose und Raffinose lieferten neben Glukon- auch Galaktonsäure. Größere Mengen von Glukonsäure wurden von Penicillium luteum, P. griseofulvum, P. citrinum, P. brevicaule, P. africanum, P. sanguifluum und P. Trzebinski gebildet. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Van Beynum, J., en **Pette, J. W.**, Onderzoekingen over zuring en aromavorming bij practijkzuursels, in gebruik bij de boterbereiding en methoden van oderzoek van zuursels. Versl. v. Landbouwkund. Onderzoek. Nr. 47 (3) C, p. 101—164. (1941). Rijksland Proefstation te Hoorn. [Holländisch, mit dtsch. u. engl. Zusfassg.]

Es zeigte sich bei der Untersuchung einer großen Anzahl von Säureweckern aus der Praxis, daß 1. Aromabakterien nie fehlten, 2. zwar eine normale Zitratvergärung sehr häufig vorkommt, diese aber mit starker Bildung von C_4-Körpern und kräftiger Reduktion gekoppelt ist, was als ein Nachteil aufzufassen ist; denn durch die kräftige Reduktion wird ein rasches Verschwinden des Aromas verursacht. Bei Untersuchung dieser Reduktionserscheinungen fanden Verff., daß die Reduktion von zugesetztem Acetoin auch in Zitronensäure-freien Lösungen vor sich ging, desgleichen auch in Milch, in der die Zitronensäure schon lange vollständig zersetzt gewesen war. Aus diesem Grunde kann die für die Reduktion benötigte Menge Wasserstoff weder von der Zitronensäure noch von den Zwischenprodukten der Zitronensäuregärung herrühren. Vermutlich stammt der Wasserstoff von einem Zwischenprodukt beim Zuckerabbau. Es konnte ferner festgestellt werden, daß zugleich mit der Reduktion auch die Ernte an Essigsäure zunahm. Verff. bezeichnen den Reduktionsgrad mit R und verstehen darunter den Prozentsatz der gesamten C_4-Verbindungen, die in Form von 2,3-Butylenglykol vorhanden sind. Er steigt im Laufe der Säuerung stetig an. Obwohl sich nun zeigte, daß reinkultivierte Aromabakterien ein mehr oder weniger starkes Reduktionsvermögen besitzen, gelang es nicht, mit diesen Stämmen einen kräftig reduzierenden Säurewecker zusammenzustellen (wahrscheinlich wegen Verlust der Reduktionskraft im Verlauf der künstlichen Kultur). Versuche, den Reduktionsfaktor R zum erstenmal sofort nach vollzogener Zitratvergärung und zum zweitenmal 8 Tage später zu bestimmen, ließen einen deutlichen Zusammenhang zwischen diesen beiden Bestimmungsergebnissen erkennen. Es kann also bei einem Säurewecker die Reduktionskraft schon während der Zitratvergärung bestimmt werden, weil die Reduktion z. T. schon während des Zitratabbaus stattfindet. Auffälligerweise ergab sich auch eine gewisse Korrelation zwischen dem Reduktionsfaktor R und der Gesamtmenge der gebildeten C_4-Verbindungen. Danach scheint der Reduktionsgrad wahrscheinlich nicht vom Reduktionsvermögen der Aromabakterien, sondern von der Geschwindigkeit der Zitratvergärung abzuhängen, weil nämlich bei einem schnellen Abbau der Zitronensäure weniger C_4-Körper entstehen, als bei einem langsamen. Dies läßt sich nach Verff. nur durch die Annahme erklären, es sei, da die Reduktion von der Zuckervergärung und die Bildung der C_4-Verbindungen von der Zitratvergärung abhängig ist, die Geschwindigkeit der bei-

den Prozesse mit der „Aktivität" der Aromabakterien verknüpft. Es muß also ein gewisser Zusammenhang zwischen den beiden Prozessen vorhanden sein. Tatsächlich ließ sich bei Reinkulturversuchen mit Aroma- und Milchsäurebakterien beobachten, daß je früher die Zitronensäure verschwunden, um so größer auch der Reduktionsgrad war. Dies war allerdings nur bei Verwendung der am kräftigsten reduzierenden Aromabakterienstämme der Fall. Sonst konnte fast gar keine Reduktion festgestellt werden. Weiterhin zeigte sich in Übereinstimmung mit den früher gemachten Befunden, daß die Bildung von C_4-Verbindungen sowie des größten Teils der Essigsäure in dem Augenblick beendet ist, wo die Zitronensäure vollständig abgebaut ist. Auch bei Säureweckern aus der Praxis war ein deutlicher Zusammenhang zwischen R und der Geschwindigkeit des Zitratabbaus vorhanden, und zwar in so ausgeprägter Weise, daß der Reduktionsgrad als proportional mit der Geschwindigkeit des Zitronensäureabbaus anzusehen ist. Verff. betonen aber ausdrücklich, daß dies nur für Säurewecker aus der Praxis zutrifft; denn bei mit Reinkulturen hergestellten Säureweckern verlieren die Aromabakterien, wie schon erwähnt, ihr Reduktionsvermögen zum größten Teil. Auch bei einer schnelleren Zitratvergärung zeigen diese nur schwache Reduktion, was in bezug auf die Aromabildung bzw. Aromaerhaltung nur als vorteilhaft zu betrachten ist. Die bei den verschiedenen Säureweckern der Praxis aufgefundenen Unterschiede konnten nicht erklärt werden, vielleicht spielt auch die Größe der Impfmengen eine Rolle. Jedenfalls wirken sich die in Säureweckern der Praxis so häufig vorkommenden starken Reduktionserscheinungen nachteilig für die Aromabildung aus und es muß versucht werden, diese möglichst zu unterdrücken. Die Kreatinprobe hat sich als sehr geeignet erwiesen, die Bestimmung der Reduktionsgeschwindigkeit laufend zu verfolgen. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Merkel, H. H., Über gehäuftes Vorkommen des Enteritiserregertyps Hvittingfoss in Südbaden. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 123. 1940. S. 45—50.)

Bericht über gehäuftes Auftreten fieberhafter Darmerkrankungen in Südbaden durch den Enteritiserregertyp Hvittingfoss. Dieser wurde 1935 erstmals bei Kühen gefunden, als Enteritiserreger nur einmal bisher in Norwegen. Bei den in Südbaden aufgetretenen Fällen handelte es sich, soweit überhaupt Krankheitserscheinungen bei Erwachsenen auftraten, um sehr leichte Erkrankungen, 2 von 4 Säuglingserkrankungen verliefen dagegen tödlich. Als Infektionsquelle konnte mit Sicherheit Milch festgestellt werden, die aus einer Milchzentrale stammte. Die Erreger konnten sowohl in der Milch als auch besonders im Quarg nachgewiesen werden. Die primäre Infektionsquelle, der Milchlieferant, konnte wegen technischer Schwierigkeiten nicht ermittelt werden. *Rodenkirchen (Dresden).*

Thompson, D. J., and Macy, H., Effect of salt on the microflora and acidity of cream. (Nat. Butter and Cheese Journ. Vol. 31. 1940. Nr. 2. p. 12—14.)

Williams (U. S. Patent Nr. 2 142 864) hat vorgeschlagen, gewöhnliches Salz als Hemmungsmittel gegenüber Mikroorganismenwachstum in Süßrahm anzuwenden, um ihn länger aufbewahren und transportieren zu können. Verff. haben diese Möglichkeiten unter Anwendung von Konzen-

trationen von 5, 7,5 und 10% nachgeprüft und sind zu folgendem Ergebnis gekommen: Mit steigender Salzkonzentration wird das Wachstum der Bakterien, insbesondere aber der Hefen wirksam hintangehalten, falls die Aufbewahrung und der Transport bei Temperaturen nicht über 21° C stattfindet. Unter diesen Umständen trat innerhalb 10 Tagen auch keine Säuregradzunahme auf. Was das Aroma betrifft, so konnten die bei 21° C aufbewahrten Rahmproben, wenn sie mit 7,5 und 10% Salz versetzt worden waren, nach der 10-Tage-Periode nur mit leichtem „Altgeschmack" kritisiert werden, während bei den mit nur 5% versetzten Proben in einem Fall der Fehler „hefig" vorlag. Die ungesalzenen Rahmproben mußten hingegen sämtlich als „käsig", „hefig" oder „alkoholisch" bezeichnet werden.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Virtanen, A. I., Kontio, P. und Storgårds, T., Die Aromabildung bei der Rahmsäuerung. (Biochem. Ztschr. Bd. 307. 1941. S. 215—219.)

Das von den Aromabakterien beim Säuern des Rahms gebildete Butteraroma ist Acetylmethylcarbinol oder, genauer gesagt, dessen Oxydationsprodukt Diacetyl. Es soll aus Zitronensäure entstehen, obwohl viele andere Mikroorganismen die ihnen eigenen Aromastoffe aus Zucker bilden. Verff. konnten nun zeigen, daß auch die Bakterien des Butteraromas (Betacoccus) dieses aus Zucker, und nicht aus Zitronensäure bilden. Denn Acetylmethylcarbinol entsteht in dem Gärgemisch unter den gewählten Versuchsbedingungen aus Glukose bei Gegenwart von Methylenblau oder Chinon als Wasserstoffakzeptoren, ohne welche der Aromastoff nicht entsteht. Dagegen liefert Zitronensäure denselben weder mit noch ohne Wasserstoffakzeptor. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Hostettler, H., Binz, M. und Sahli, K., Über die durch Bact. coliaerogenes und Bact. casei delta im Salzbad und im Salzkeller beim Emmentaler Käse hervorgerufenen Blähungserscheinungen. (Schweiz. Milchztg. Jahrg. 66. 1940. S. 435—436, 447—448 u. 453—454.)

Bei Blähung von Emmentaler Käsen im Salzbad oder im Salzkeller (Alter der Käse etwa 3—15 Tage) beschränkte sich die gasige Gärung in der Regel auf Zonen oder vereinzelte Stellen der Rindenpartie auf der Flachseite oder an der Färbseite. Nur ausnahmsweise war der ganze Käse von der Gasbildung ergriffen. Entweder bestand das Gärgas aus einem Gemisch von Kohlensäure und Wasserstoff oder aus Kohlensäure allein. Im ersten Fall konnten Vertreter der Coli-aerogenes-Gruppe, im zweiten Fall solche des Bact. casei δ (Syn. Betabacterium longum Orla-Jensen) nachgewiesen werden. Da das in Frage stehende Betabacterium Laktate kaum, Milchzucker aber leicht vergärt, falls eine günstige N-Quelle vorhanden ist (z. B. bereits abgebautes lösliches Eiweiß), kann es sich, ähnlich wie auch die Colibakterien, nur in solchen Käsen gut entwickeln, die infolge einer stark verzögerten Milchsäuregärung im jungen Teig noch reichlich Milchzucker besitzen. Dieser wird dann unter Gasbildung und ganz schwacher Säurebildung zersetzt. In der Tat zeigte sich auch bei der chemischen Analyse der in der Blähzone liegenden Käsemasse, daß die p_H-Werte und der Milchsäuregehalt gegenüber normalen Käsen große Abweichungen aufwiesen. Weiterhin konnte durch Laboratoriumsversuche festgestellt werden, daß die Betabakterien auf die Entwicklung der für die

Emmentalerkäsereifung wichtigen Thermobakterien eine hemmende Wirkung ausüben. Dieser Fall dürfte auch im Käse gegeben sein. Was die Herkunft der Betabakterien betrifft, so kommen nach den Verff. als Infektionsquellen das Schottenmagenlab, die Fettsirtenkäsereikultur und die Labmägen selbst in Betracht. Es wurde auch nach anderen Gasbildnern gefahndet (Hefen, Propionsäure- oder Buttersäurebazillen), jedoch ohne Erfolg. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Doane, C. F., Canning of cheese. (Nat. Butter and Cheese-Journ. Vol. 13. 1940. Nr. 7. p. 12—13, 32—34.)

Verf. behandelt nach einer historischen Einleitung die Reifung verschiedener Käsesorten in (kleinen) Behältern. Das Bombieren infolge Bildung von Gärgasen kann in einfacher Weise durch Anbringung eines Ventils verhindert werden. Fehlerhafte Gärung, die natürlich trotz der Ventile vorkommt, kann man jedoch nicht einfach dadurch ausschalten, daß man die betreffende Käsereimilch pasteurisiert. Auch sind es nicht immer Bakterien, die Veranlassung zu Käsefehlern, insbesondere Geschmacksfehlern, geben. So ist z. B. der Geschmacksfehler „scharf, salzig" auf rein chemische Ursachen zurückzuführen. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Iwanowa, S. I., Mikrobiologische Untersuchungen von Fischkonserven „Murmansker Kiloströmling". (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 7/8. 1940. S. 706—716.) [Russisch.]

Der Zerfall von Fischkonserven „Murmansker Kiloströmling" bei der Lagerung stellt möglicherweise einen fermentativen Prozeß dar, der bei Temperaturen von 30—35° sehr beschleunigt wird. Antiseptische Mittel setzen die Bakterienmenge stark herab, jedoch beseitigen sie den Zerfallsprozeß nicht. Die Mikroflora der genannten Fischkonserven besteht hauptsächlich aus Mikrokokken vom Typ Milchsäurebakterien bzw. Diplokokken (Streptococcus citrovorus) sowie aus sporenbildender Mikroflora (Bac. mesentericus, Bac. subtilis u. a.). Mit dieser letzteren werden Fischkonserven meist durch Zutaten infiziert. Der isolierte Streptococcus citrovorus besitzt nur schwache Aktivität und bildet in Milch flüchtige Säuren; seine Beteiligung an dem Reifungsprozeß des Kiloströmlings und an der Aromabildung ist wahrscheinlich. Bei der Lagerung in Kühlräumen ist die Menge von aromabildenden Bakterien in Fischkonserven nur gering, sie steigt jedoch bei Temperaturerhöhung, was der Verf. durch stimulierende Wirkung von löslichem Stickstoff, der sich infolge von intensiv verlaufenden fermentativen Reaktionen anhäuft, zu erklären sucht. Zu starke Entwicklung von aromabildenden Bakterien in Konservenbüchsen kann zur Bombage führen, da diese Bakterien Kohlensäure ausscheiden. *M. Gordienko (Berlin).*

Haehn, H. und Rothenbach, E., Zur Kenntnis der Leichtbiere. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 58. 1941. S. 98—100.)

Bei der Schaffung eines Leichtbieres besteht die Aufgabe für den Brauer darin, ein Getränk mit einem Alkoholgehalt von höchstens 0,5% zu schaffen, was nur durch einschneidende Maßnahmen in der Leitung des Brauprozesses möglich erscheint. Das Geschmacksproblem ist in diesem Fall das technische Problem, da der Alkoholgehalt eine wichtige Geschmackskomponente des Bieraromas darstellt. — Verff. haben eine Anzahl von Leichtbieren verschie-

dener Hersteller untersucht. Bei den Proben mit Malzbiercharakter wurde der vorgeschriebene Alkoholgehalt nicht überschritten, die Geschmacksabweichungen waren gering, der Extraktgehalt war hoch und diätetisch wertvoll. Die Proben vom Charakter dunklen Lagerbieres entsprachen geschmacklich nicht, z. T. war auch der Alkoholgehalt zu hoch. Bei den hellen Leichtbieren waren mehrere ziemlich brauchbare Getränke. Es wird betont, daß es nicht möglich ist, einfach durch Herabsetzung des Extraktes einer Würze zu alkoholfreien Bieren zu kommen. — Die Art der verwendeten Gärungserreger ist nicht angegeben. *Heuß (Berlin).*

Fink, H. und **Just, F.**, Über den Vitamin B_1-Gehalt von Malzbieren und seine Ermittlung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 58. 1941. S. 19—20.)

Gezuckertes und ungezuckertes Karamelmalzbier vom Bottich (vor dem Pasteurisieren kalt filtriert) enthält nur Spuren von Vitamin B_1. Es sind deshalb merkliche Mengen von Vitamin B_1 nur in solchen Malzbieren zu erwarten, die mittels Flaschengärung karbonisiert und anschließend zusammen mit der Hefe pasteurisiert worden sind. Quantitative Vitamin B_1-Bestimmungen ergaben, daß sich beim Pasteurisieren das Vitamin B_1 aus den Hefezellen dem Bier mitteilt bzw. sich gleichmäßig auf Bier und Hefezellen verteilt. Man fand in drei Malzbierproben verschiedener Herkunft mittlere Vitamingehalte von 32, 21 und 39 γ je Flasche ($\frac{1}{3}$ l). Einer höheren Vitaminisierung des Malzbieres ohne grundsätzliches Abweichen von der üblichen Herstellungsweise steht nichts im Wege. *Heuß (Berlin).*

Fink, H. und **Just, F.**, Über den Vitamin B_1-Gehalt von Malzbieren und seine Ermittlung. II. Mitt. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 58. 1941. S. 79—83.)

Über das Malzbier gelangen recht nennenswerte Mengen von Hefe in die Volksernährung. Man studierte die Auswirkung einer erhöhten Hefegabe unter betriebstechnischen Bedingungen und stellte die Vitamin B_1-Bilanz bei der Malzbierherstellung auf. Der endgültige Vitamin B_1-Gehalt des fertigen Malzbieres hat seinen Ursprung in vier Quellen: 1. in dem geringen Vitamingehalt des normal vergorenen, obergärigen Bieres ohne die schwebende Hefe, der noch von dem Vitamingehalt der Anstellwürze herrührt, der erst im Laufe der Vergärung von der Hefe aufgenommen wird; 2. in dem Vitamingehalt der mitgerissenen bzw. schwebenden obergärigen Bottichhefe; 3. in dem Vitamingehalt, den die zwecks Flaschengärung zugesetzte untergärige Hefe mitbringt und 4. in dem Vitamingehalt, der auf Vitaminsynthese durch Hefevermehrung in der Phase der Flaschengärung zurückzuführen ist. Je nach der Arbeitsweise kann die Größe der vier Anteile erheblich schwanken. Am wenigsten kann man über den Anteil 4) vorhersagen.

Heuß (Berlin).

Kolbach, P. und **Antelmann, H.**, Einige Versuche zur Herstellung alkoholfreier Getränke aus Bierwürze. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 58. 1941. S. 86—88.)

Für alkoholfreie, bierähnliche Getränke sind in den Richtlinien der Reichsgesundheitsführung die gleichen Grundstoffe vorgesehen wie für das normale Bier. Verff. verwendeten aus diesem Grunde Gerstenmalz und Hopfen als Grundstoffe für ihre Versuche, die in laboratoriumsmäßigem Maßstab durchgeführt wurden. Da der Alkoholgehalt 0,5% nicht übersteigen

darf, arbeiteten sie mit einer hellen, gehopften Würze von 4%, die neben Maltose noch etwa 0.4—0.5% Zucker enthält, der sich aus Rohrzucker, Glukose und Fruktose zusammensetzt. Durch Auswahl einer Hefe, die Maltose nicht vergärt, läßt sich der Alkoholgehalt ohne weiteres so niedrig halten. Eine Reihe von Mikroorganismen — Saccharomyces Baillii, Saccharomyces Marxianus, Saccharomycodes Ludwigii, Pichia membranaefaciens, Willia anomala, Blütenhefe, Brettanomyces. Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces ellips. Tokayer, Saccharomyces ellipsoideus I. Schizosaccharomyces Pombe, Endomyces fibuliger, Sachsia suaveolens, Termobacterium mobile — wurden geprüft. Die durch Sacch. Ludwigii und ähnliche schwach vergärende Hefen in 4proz. Bierwürze bewirkte Gärung genügt nicht zur Erzielung eines angenehmen Geschmacks. Zur Herstellung bierähnlicher Getränke kommen in erster Linie Bierhefe und auch Brettanomyces in Frage. Da niedrigprozentige und schwach vergorene Biere leer und charakterlos schmecken, muß die Erzielung eines ausgeprägten Geschmackes durch besondere Maßnahmen angestrebt werden. In Frage käme beispielsweise eine Anreicherung des Bieres mit Hopfenöl oder mit Säure. Wenn man bei Gärungsgetränken auf die Bierähnlichkeit verzichtet, kommen zur Erzielung eines angenehmen Geschmackes u. a. in Frage: S. ellips. Tokayer, Endomyces fibuliger, Sachsia suaveolens und Blütenhefe. *Heuß (Berlin).*

Haehn, H., Richtlinien und Versuche zur Herstellung eines hygienischen Volksgetränks. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 58. 1941. S. 63—65.)

Das Verfahren der Herstellung des sog. Ludwigbieres mit Hilfe des Saccharomyces Ludwigii erscheint als Grundlage zur Schaffung eines Volksgetränks geeignet. Der genannte Organismus greift Maltose nicht an, dagegen solche Zucker, die im allgemeinen in der Würze nicht oder nur in geringer Menge vorkommen. Durch Zugabe solcher Zuckerarten ist eine feine Regulierung der Gärung und Hefevermehrung leicht möglich. Man erzielt so einen niedrigen Alkoholgehalt bei Erhaltung der Maltose und der Eiweißstoffe und Mineralsalze. Neben dem Ludwigbier wird auch das sog. Molkenbier besprochen, bei dem das Malz des Bieres teilweise durch die eiweißreiche Labmolke ersetzt wird. Dabei wird am besten ein Infusionsverfahren verwendet. *Heuß (Berlin).*

Nepomnjatschaja, M. L., Libermann, L. A., Frenkel, G. M. und **Tydelskaja, I. L.**, Über den Erreger der Gasbildung bei der Diffusion. (Zucker. Nr. 10/11. 1940. S. 4—6.) [Russisch.]

Aus den Zuckerrübenschnitzeln und Diffusionswässern wurden drei Mikroorganismenarten, welche die Fähigkeit besitzen, Saccharose bei einer Konzentration von 10—25% unter Gasbildung zu fermentieren, isoliert: 1. Leuconostoc mesenterioides, 2. Aerobacter liquefaciens, 3. Bac. amylobacter. Bei der Diffusion wird die Gasbildung wahrscheinlich jedoch durch B. amylobacter hervorgerufen, da Leuconostoc mesenterioides und Aerobacter liquefaciens dies nur bei viel niedrigeren Temperaturen, als diese in Diffusoren vorkommen, bewirken können. *M. Gordienko (Berlin).*

Fink, H. und **Lechner, R.**, Zur Bestimmung der Hefeergiebigkeit von Rohstoffen für die Futterhefengewinnung. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 54. 1941. S. 281—284.)

Zur Gewinnung von Futterhefe kommen an Rohstoffen besonders folgende in Betracht: Holzzucker nach dem Bergius-Rheinau- bzw. Scholler-Tornesch-Verfahren, Nadelholz- und Laubholzsulfitablaugen, Kartoffelmaischen und Pulpehydrolysate, Melasse, diverse Schlempen. Diese Kohlenstoffquellen liegen in recht verschiedenartiger Zusammensetzung vor. Man versuchte, diese Kohlenhydrate in den Nährlösungen zu erfassen und auf Grund der mit reinen Zuckern erreichbaren Standardausbeuten die zu erwartenden Höchstausbeuten in den technischen Hefenährlosungen zu berechnen. Man kam damit aber zu keinen befriedigenden Resultaten und führte deshalb den Begriff der „Hefeergiebigkeit" ein. Darunter wird diejenige Hefemenge (Torula utilis) verstanden, die aus einer bestimmten Menge Nährsubstrat unter optimalen Bedingungen in einer festgelegten Verhefungsapparatur erhalten werden kann. Damit sind alle Schwierigkeiten der analytischen Erfassung und Auswertung der Bestandteile der Nährlosung beseitigt. Als Bezugssystem für die Hefe- bzw. Rohproteinausbeute gilt lediglich ein bestimmtes Volumen oder eine bestimmte Gewichtsmenge des Hefenährsubstrates. Die Standardapparatur und die Arbeitsweise werden beschrieben.

Heuß (Berlin).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Fedorow, M. W., Einfluß des Azotobakters auf die Stickstoffbilanz des Bodens und auf den Ertrag der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen bei der Düngung des Bodens mit Stroh. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 6. 1940. S. 541—556.) [Russisch.]

Auf dem mit Stroh allein (Haferstroh) gedüngten Podsolboden waren Stickstoffverluste im Laufe von 3 Jahren die stärksten, sie stellten sich etwa gleich denen in den Kontrollgefäßen. In den mit Stroh und $CaCO_3$ gedüngten Gefäßen waren die Stickstoffverluste etwas geringer, noch günstiger fiel die Stickstoffbilanz in den mit Stroh und Azotobacter chroococcum gedüngten Gefäßen aus (ohne Defizit), und am günstigsten auf den mit Stroh, $CaCO_3$ und Azotobakter gedüngten (mit einer Zunahme an Stickstoff). Die Erträge verteilten sich wie folgt (Versuchspflanze Hafer): Bei der Gabe von Stroh allein setzte sich der Ertrag im ersten Versuchsjahre um 10% herab (gegen Kontrollgefäße) und stieg dann im zweiten und dritten Jahre bedeutend: ein ähnliches Bild ließ sich auch bei der Gabe von Stroh und $CaCO_3$ feststellen; bei der Gabe von Stroh und Azotobakter war der Ertragsunterschied (gegen Kontrollgefäße) in dem ersten Versuchsjahre geringer, und bei der Gabe von Stroh mit $CaCO_3$ und Azotobakter war er minimal bei einer sehr bedeutenden Steigerung im zweiten und dritten Versuchsjahre.

M. Gordienko (Berlin).

Lojzjanskaja, M. S., Über die Entwicklung der Knöllchenbakterien in Wurzeln der alkaloidhaltigen und alkaloidfreien Lupine: Die Stickstoffixation durch Knöllchenbakterien in Wurzeln der alkaloidhaltigen und alkaloidfreien Lupine. (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 15—32.) [Russisch.]

Die alkaloidhaltige und die alkaloidfreie Lupine enthalten gewisse Mengen

von Alkaloiden bzw. von ihren Begleitstoffen, die die Entwicklung von Bact. radicicola beeinflussen. Bei der Entwicklung in Wurzeln alkaloidhaltiger und alkaloidfreier Pflanzen weist ein und derselbe Bakterienstamm verschiedene stickstoffixierende Fähigkeit auf. Der Stamm Nr. 24 zeigte stärkere Stickstoffixation in den Wurzeln der alkaloidfreien Lupine als der Stamm Nr. 6, während der letztere in den Wurzeln der alkaloidhaltigen Lupine den Stickstoff intensiver fixierte als der erstgenannte Stamm. Der Alkaloidgehalt in alkaloidhaltigen Lupinenpflanzen, die mit dem Stamm Nr. 6 geimpft waren, war niedriger als der in den mit dem Stamm Nr. 24 geimpften. Weiter beeinflussen die Lupinenalkaloide die Bildung von Bakteroiden bei Bact. radicicola. Höhere Alkaloidmengen (0,1—0,5%) verursachen blasenförmige, fast kugelige Bakteroidenformen, sehr hohe Alkaloidmengen rufen einen völligen Stillstand der Entwicklung hervor.

M. Gordienko (Berlin).

Scheloumowa, A. M., Das Wesen der Wirkung von „Azotogen". (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 33—41.) [Russisch.]

Die Wirkung des „Azotogens" (Präparat aus zerkleinerter Torfmasse und reiner Azotobakterkultur) beruht auf der stickstoffixierenden Tätigkeit des Azotobakters. Die Einwirkung des letzteren auf den Ertrag der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen steigt mit seiner stickstoffixierenden Fähigkeit. Torfmasse ohne Azotobakter übt auf den Ertrag gar keinen Einfluß aus; dasselbe bezieht sich auch auf Torfmasse mit Filtraten der Azotobakterkultur bzw. mit abgetötetem Azotobakter. *M. Gordienko (Berlin).*

Kriss, A. Je., Korenjako, A. I. und Migulina, W. M., Knöllchenbakterien in den arktischen Gebieten. (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 61—73.) [Russisch.]

Aus den Knöllchen an den Wurzeln einiger Pflanzen arktischer Gebiete (Hedysarum obscurum, Oxitropis Maydelliana, Oxitropis nigrescens, Astragalus alpinus, Astragalus umbellatus usw.) wurden einige Stämme isoliert, die in bezug auf ihre morphologischen, kulturellen und physiologischen Eigenschaften keine Verschiedenheiten von den bisher bekannten Knöllchenbakterien zeigen. Ebenso wie diese bilden die isolierten arktischen Stämme auf geeigneten Substraten Bakteroiden, entwickeln sich nicht auf Fleisch-Pepton-Substraten, rufen typische Veränderungen in der Milch hervor usw. Die serologischen Untersuchungen zeigten, daß zwischen den arktischen Knöllchenbakterien und denen in unseren geographischen Breiten keine Verwandtschaft besteht.

M. Gordienko (Berlin).

Gärtner, K., Vergleichende Untersuchungen zur Schnelldiagnose von Bact. coli im Trinkwasser. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 122. 1940. S. 661—672.)

Von 242 vergleichend untersuchten Trinkwasserproben enthielten 199 Bact. coli. Die Treffsicherheit der einzelnen Nachweisverfahren war folgende:

1. Prüfung auf Indol bei 37° mit 0,1, 1,0, 5,0, 10,0 und 15,0 ccm des zu untersuchenden Wassers lieferte nach 24 Std. Bebrütung 85,8% positive Ergebnisse, nach 48 Std. 96,4%. Bei 46° trat Indolbildung verzögert und in 49 bzw. 31% der Proben gar nicht ein. Vergleichsuntersuchungen mit dem Indolreagens nach Ehrlich und nach Kovacs zeigten keine Unterschiede.

2. Die Gärprobe nach Eijkmann bei 46° fiel nur bei 68.8% der Proben positiv aus, dagegen die nach Bulir bei 46° bei 80,9% und die mit 1proz. Milchzucker-Trypsinbouillon (bei 37°) bei 80,8 (nach 24 Std.) bzw. 84,6% (nach 48 Std.).

3. Durch Kombination des Bulirschen Gärversuches bei 46° mit einem bei 37° durchgeführten Indolgärungsverfahren in Milchzucker-Trypsinbouillon wird ein großer Teil der Prüfung in der sog. „Bunten Reihe" entbehrlich. Völlig negativer Ausfall der beiden Proben ist beweisend für die Abwesenheit von Bact. coli, während der positive Ausfall beider Proben die Anwesenheit von Bact. coli sicher beweist.

Rodenkirchen (Dresden).

Gärtner, K., Die Brauchbarkeit und Empfindlichkeit einer Indolgärungsmethode im Verein mit der Bulirschen Probe zur bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 123. 1940. S. 5—15.)

An 405 mikromanipulatorisch isolierten Coli-Einzellkulturen wurde festgestellt, daß alle Colibakterien mit Gasbildungsvermögen in Milchzuckerbouillon auch positive Indolreaktion ergeben. Besondere kulturelle Untersuchungen sind also nur nötig, soweit der Gärversuch nach Bulir bei 46° und die Prüfung auf Gas- und Indolbildungsvermögen in Milchzucker-Trypsinbouillon bei 37° nicht gleichartig ausfallen, was bei etwa der Hälfte aller untersuchten Wasserproben der Fall war; die übrigen Proben lieferten dagegen schon innerhalb von 1—2 Tagen einwandfreie Ergebnisse.

Bei 46° trat allgemein eine gewisse Wachstumshemmung des Bact. coli ein, und zwar um so stärker, je älter die Wasserinfektion war.

Rodenkirchen (Dresden).

Deutschländer, H., Über die Ursachen von Keimvermehrung in Rohrnetzen zentraler Wasserleitungen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 122. 1940. S. 639—650.)

Trotz einwandfreier Beschaffenheit des Wassers auf den Pumpstationen kann im Vermehrungsgebiet die Wasserqualität zu Beanstandungen Anlaß geben. So wurden in einem veralteten Rohrnetz zweier abgelegener Gemeindegebiete erhebliche Keimvermehrungen beobachtet durch starke schleimige Ablagerungen aus anorganischen und organischen Substanzen. Geringer Gehalt des Wassers an Eisen, Mangan und Ammoniak ermöglichten Eisenbakterien und anderen Organismen gute Entwicklungsbedingungen; auch die verminderte Spülwirkung des strömenden Wassers war für die Mikroben günstig. In einem zweiten Fall wirkte sich langes Stagnieren des Wassers bei stark erhöhten Temperaturen schädlich aus. In einem dritten Fall kam es durch Einschwemmen erheblicher Mengen organischer Substanz zu erhöhter Chlorbindung in Talsperrenwasser, so daß das Chlor ungenügenden Sterilisierungseffekt entwickelte. *Rodenkirchen (Dresden).*

Ssimakowa, T. L., Die die Spaltung organischer Stoffe in Methantanken hervorrufende Mikroflora. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 9/10. 1940. S. 845—852.) [Russisch.]

Untersuchungen der Abwässer von Leningrader „Fleischkombinat" ergaben folgende Resultate: die Spaltung der Eiweißstoffe bis zu Endprodukten CH_4 und CO_2 wird durch eine spezifische Mikroflora bewirkt, außerdem wirkt auf Eiweißstoffe eine nicht spezifische Mikroflora ein, die die Spaltung

bis zu Aminosäuren bringt. Zur Isolierung der die Eiweißstoffe spaltenden Bakterien wird empfohlen, mineralische Substrate mit einer bestimmten Eiweißart (Albumin, Kasein usw.) zu benutzen; Fleischpeptonbouillon eignet sich dazu nicht. Salze der Fettsäuren werden hauptsächlich durch spezifische Bakterien bis zu CH_4 und CO_2 gespalten, die sich am besten auf den die Aminosäuren (Asparagin, Glykokoll usw.) enthaltenden Substraten entwickeln. Auf den die komplizierten Eiweißstoffe enthaltenden Substraten (Albumin, Hämoglobin u. a.) entwickeln sich diese Bakterien schlecht. Fast alle isolierten Bakterienstämme behielten im Laufe von 1½ Jahren die Fähigkeit, Fette zu spalten. *M. Gordienko (Berlin).*

Tierische Schädlinge.

Wiesmann, R., Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung der Erdbeermilbe Tarsonemus pallidus (fragariae Z.) Banks. (Landw. Jahrbuch der Schweiz. Heft 3. 1941.)

Die durch die Erdbeermilbe verursachte Kräuselkrankheit der Erdbeerpflanzen wurde monographisch bearbeitet. Der Schädling überwintert als Weibchen zwischen den jüngsten Blättchen der Pflanzen. Während des Sommers bildet er mehrere Generationen, die meisten im Juli und August. Die optimalen Lebensbedingungen findet die Milbe bei 85—100% Feuchtigkeit und 12—27° C. Die Zahl der Männchen beträgt nur 25—30%. Die von einem Weibchen abgelegten Eier schwanken zwischen 28—41 Stück. Die optimale Temperatur für die Eiablage liegt bei 22°, aber schon bei 8° werden vereinzelt Eier abgelegt. Die Ausbreitung der Milbe erfolgt aktiv längs der Erdbeerranken und passiv hauptsächlich durch Erdbeersetzlinge, die von befallenen Stöcken stammen. Alle Kulturformen der Erdbeere werden von der Milbe befallen. Als bestes Mittel zur Bekämpfung ist Methylbromid anzusehen. Die Vergasung der Erdbeerpflanzen mit diesem Mittel erfolgt in gasdichten Kisten mit 20 g Methylbromid auf 1 cbm Kisteninhalt, bei 20—25° C und einer Einwirkungsdauer von 6 Std. Diese Bekämpfungsmethode hat sich in der Praxis zur Erhaltung seuchenfreien Pflanzenmaterials bereits bewährt. *K. Müller (Freiburg i. Br.).*

Kunike, G., Zur Lebensweise des schwarzbraunen Reismehlkäfers, Tribolium destructor Uytt. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. 21. Jahrg. 1941. S. 49—50.)

Der schwarzbraune Reismehlkäfer ist ein gefährlicher Vorratsschädling, da Larven und Käfer fressen. Die Lebensdauer ist recht lange, die Eizahl entsprechend hoch. Geschädigt werden eine große Anzahl von Nahrungs-, Genuß-, Futtermittel u. ä. Durch gasförmige Absonderungen der Käfer erhalten die Waren einen unangenehmen Geruch. Dieser ist stechend scharf und reizt die Schleimhäute. Bekämpfung erfolgt im Saatgut durch Vermischen mit fein gepulvertem Paradichlorbenzel (70—80 g je 50 kg). Kleinere Warenmengen werden in einer Vergasungskiste entwest.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Abgeschlossen am 12. November 1941.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 17|22.
Ausgegeben am 15. Januar 1942.

Nachdruck verboten.

Über Beziehungen zwischen epidemiologischem und meteorologischem Geschehen, unter besonderer experimenteller Berücksichtigung der Inhibinwirkung.[1]

[Aus der mikrobiologisch-chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **H. Bortels.**

Mit 62 Abbildungen im Text.

Die epidemiologische Forschung hat seit einigen Jahren neue Wege beschritten. Sie ist dazu gezwungen worden, weil die Koch sche Infektionslehre nicht imstande war, die Entstehung, die Ausbreitung und das Abklingen der Epidemien in jedem Falle zu erklären. Die klassisch bakteriologische Vorstellung von der allmählichen Ausbreitung einer Seuche durch Übertragung eines Krankheitserregers von Wirt zu Wirt war mit dem oft beobachteten schlagartigen Auftreten einer Krankheit in weitesten Räumen ebenso unvereinbar wie mit den zuweilen gegen jede Infektionstheorie sprechenden Zügen einer Seuche. Man erinnerte sich nun wieder der fast schon in Vergessenheit geratenen Pettenkofer schen Lehre von der zeitlichen und örtlichen Bedingtheit der Seuchenentstehung und machte sie erneut als „Neolokalismus“ oder „Meteoropathologie“ (De Rudder), als „Geoepidemiologie“ (Rimpau) und als „Geomedizin“ (Zeiss) zur Grundlage moderner Forschung. Inzwischen hat diese neue epidemiologische Forschungsrichtung Mediziner und Meteorologen bzw. Geo- und Kosmophysiker zur Gemeinschaftsarbeit zusammengeführt und die Aufstellung fruchtbarer Theorien sowie die Gewinnung neuer Erkenntnisse ermöglicht.

Im Vordergrund der Betrachtungen über den Umwelteinfluß auf das Kommen und Gehen von Krankheiten und Epidemien steht nach wie vor das Wetter[2]). Es gilt heute bereits als feststehende Tatsache, daß das Befinden des kranken wie auch des gesunden Menschen eine auffällige Parallelität zum Wetterverlauf zeigt, so daß hierin Beziehungen zur Krankheitsentstehung, vor allem zur Entstehung sog. Infektionskrankheiten erblickt werden können. Wolter (63—66) geht sogar von jeher als Schüler Pettenkofers so weit, die sonst allgemein anerkannte epidemiologische Bedeutung der Forschungsergebnisse Robert Kochs überhaupt in Abrede zu

[1]) Ausgeführt mit Unterstützung durch den Reichsforschungsrat.

[2]) Von vornherein sei ausdrücklich betont, daß immer, wenn hier vom Wetter die Rede ist, damit nicht die allgemein bekannten meteorologischen Elemente Licht, Wind, Feuchtigkeit, Druck und Temperatur gemeint sind, sondern etwas Unbekanntes bezeichnet werden soll, das im Wettergeschehen in bestimmter Weise zum Ausdruck kommt und später noch näher erläutert werden wird.

stellen; und andere (Hoering, 26; Kairies, 31; Lotze, 36) kommen neuerlich ebenfalls zu einer mehr oder weniger vollständigen Abkehr von der Kochschen Lehre.

Der Grund hierfür dürfte in erster Linie darin zu suchen sein, daß die medizinische Forschung naturgemäß ihr Augenmerk bisher fast ausschließlich auf die Wechselbeziehungen zwischen Wetter und Mensch bzw. Tier oder zwischen Wetter und Krankheit des Menschen oder der Tiere gerichtet hat (De Rudder, 6—9), weniger dagegen auf mögliche Beziehungen zwischen Wetter und pathogenen Mikroorganismen. Hierüber finden sich nur gelegentliche Andeutungen, wie z. B. von Martini (37) bezüglich des Malariaerregers im Menschen oder von Kairies (31) und Flohn (23), die bei den Erregern von Grippe und Erkältungskrankheiten Virulenzsteigerung durch Witterungseinflüsse vermuten. Pettenkofer selbst hat die Existenz und Bedeutung des belebten Erregers einer Krankheit niemals geleugnet. Vielmehr hat er nach Angaben seines Schülers Gruber (24) für das Zustandekommen einer Choleraepidemie drei gleichwertige Faktoren als unbedingt notwendig erachtet; nämlich 1. den „von außen eingeschleppten Krankheitsstoff (x), den er von Anfang an als einen parasitischen Keim betrachtete“, 2. „die persönliche Empfänglichkeit des infizierten Individuums (y)“ und 3. „gewisse örtliche und zeitliche Bedingungen, die er örtliche und zeitliche Disposition (z) nannte“. Es ist kaum noch daran zu zweifeln, daß die derzeitige Entwicklung der Epidemiologie zu einer vollständigen Wiederanerkennung dieser Pettenkoferschen Grundanschauung führen wird.

Ebenso verständlich wie die Ausrichtung der statistischen medizinisch-meteorologischen Forschung auf das Verhalten des Menschen war die Hinführung allgemein mikrobiologischer Arbeiten, vor allem oft wiederholter Reihenversuche auf bestehende Beziehungen der Mikroorganismen zum Wetterverlauf. So konnte an langen Reihen ständig wiederholter Versuche der Nachweis geführt werden, daß sich auch Mikroorganismen in ganz eindeutiger Weise parallel zum Wetterverlauf inkonstant verhalten. Zunächst wurde diese Wetterbeziehung bei stickstoffbindenden Bakterien festgestellt (Stapp und Bortels, 57 und Bortels, 3), dann aber auch bei anderen Mikroorganismen, worüber später in besonderen Veröffentlichungen und z. T. in dieser Arbeit berichtet werden wird.

Es war nun natürlich naheliegend, hierin eine Möglichkeit zur weiteren Klärung der Frage nach der meteorotropen Entstehung von Krankheiten und damit zu einem Fortschritt in der gesamten Epidemiologie zu erblicken, obwohl zunächst nicht recht einzusehen war, wie die unbekannte wettergebundene Ursache das Verhältnis zwischen Wirtsorganismus und Parasit entscheidend beeinflussen sollte. Denn es hatte sich gezeigt, daß die Mikroorganismen in genau der gleichen Weise von dem Wetterfaktor abhängig sind wie etwa der Mensch. Das heißt, im großen und ganzen war bei herannahenden oder sich verstärkenden Antizyklonen eine Belebung und umgekehrt bei herannahenden oder sich verstärkenden Zyklonen eine Lähmung der Mikroorganismen und ihres Stoffwechsels festgestellt worden. Das gleiche gilt für den Menschen, wie aus zahlreichen Angaben im einschlägigen Schrifttum und auch aus eigenen Beobachtungen zu entnehmen ist. Es sei da nur auf die allgemein bekannten Erscheinungen wie Gesichtsblässe, Appetitlosigkeit, Darmträgheit und Müdigkeit bei nahendem Tief und umgekehrt Gesichtsrötung, Hungergefühl, rege Darmtätigkeit und Munterkeit bei nahen-

dem Hoch hingewiesen. Demnach wäre also eigentlich zu erwarten gewesen, daß immer bei entsprechender Wetteränderung eine Belebung oder Schwächung des Wirtsorganismus und des Parasiten gleichzeitig stattfindet, das Verhältnis zwischen beiden also stets das gleiche bleibt und somit ein Unterliegen des einen oder anderen unter dem Einfluß des Wetters niemals eintreten kann.

Inhibinwirkung und Wetterverlauf.

Jedoch war die Frage vor einer endgültigen Entscheidung experimentell zu prüfen. Zu diesem Zweck schienen laufend zu wiederholende Untersuchungen über die antibakterielle Wirkung des menschlichen Speichels, wie sie Dold und Mitarbeiter (13, 60, 61) festgestellt hatten und Mühlenbach (40) und andere sie bestätigen konnten, als Modellversuch aus verschiedenen Gründen besonders geeignet. Denn erstens war die Methode denkbar einfach. Zweitens war den Untersuchungsergebnissen allgemeinere Bedeutung zuzuerkennen, weil die gegen Bakterien und vielleicht ebenso gegen Pilze und Viren gerichteten „Inhibine“ und „Mutine“ des Speichels von Dold und Mitarbeitern (10, 11, 15, 39) auch in anderen, z. T. pflanzlichen Geweben und Sekreten nachgewiesen werden konnten, bezeichnenderweise dagegen nicht in den Sekreten geschlossener Körperhöhlen, die für die Abwehr äußerer Infekte nicht in Frage kommen (12). Drittens konnten die Feststellungen der Doldschen Schule z. T. von anderer Seite nicht bestätigt werden (55), und außerdem wurden in der Wirkung des Speichels auf Bakterien unerklärbare zeitliche Schwankungen beobachtet (60). Dieser dritte Grund war für die Inangriffnahme der Speichelversuche schließlich entscheidend. Er schien gewissermaßen schon darauf hinzudeuten, daß das Wetter die Wirkung des Speichels irgendwie beeinflußte.

Die an diesem Objekt durchgeführten Untersuchungen sind jedoch ebenso wie die nachfolgenden Beispiele aus der medizinischen Epidemiologie nur als klärende Vorarbeit aufzufassen für eingeleitete epidemiologische Untersuchungen auf dem Gebiete der Phytopathologie. Dieses Vorgehen scheint auch dadurch gerechtfertigt, daß die Pathologie des Menschen bereits über reiche Erfahrung hinsichtlich der Beeinflussung durch den unbekannten Wetterfaktor verfügt, die Pathologie der Pflanzen aber noch nicht. Außerdem ist die allgemeine Epidemiologie ein ausgesprochenes Grenzgebiet der naturwissenschaftlichen Forschung. Deshalb muß dem Wissenschaftler der Übertritt auf Nachbargebiete zum Zwecke einer schnelleren und sichereren Erreichung des Zieles gestattet sein.

Als Testbakterium für die Speichelwirkung wurde Bact. prodigiosum gewählt, und zwar ein Stamm, der aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin bezogen worden war und in der Biologischen Reichsanstalt seit mehreren Jahrzehnten auf Bouillon-Agar gezüchtet wurde. Wegen seiner Farbstoffbildung verdiente dieses Bakterium, jedenfalls zunächst, den Vorzug vor farblosen pflanzenpathogenen Arten. Menschen- oder tierpathogene kamen aus äußeren Gründen nicht in Frage. Ein grundsätzlicher Unterschied zwischen dem Verhalten pathogener und nichtpathogener Bakterien war nicht zu erwarten und hatte sich auch bei Dolds Untersuchungen nicht ergeben.

Das Verfahren gestaltete sich im wesentlichen genau so, wie es von Dold, Lächele und Du Dscheng Hsing (13) beschrieben ist: Von Bouillon-Agar, der aus 2 g Liebigs Fleischextrakt, 1 g Pepton Witte, 170 ccm 4proz. Wasseragars und 30 ccm Wasser zusammengesetzt war, wurden jeweils 4 ccm in Röhrchen sterilisiert, nach Abkühlung auf 45° C mit je 4 ccm ebenfalls in Röhrchen kurz auf 37 bis 40° C im Wasserbad erhitzten Speichels bzw. Speichels und physiologischer Kochsalzlösung vermischt und in Petrischalen ausgegossen. Die Mischungen des Speichels mit physiologischer Kochsalzlösung wurden stets im Verhältnis 3 + 1, 2 + 2 und 1 + 3 hergestellt. Anfänglich kam immer und später in einigen besonderen Fällen als Kontrollnährboden derselbe Bouillonagar mit 4 ccm unverdünnten, aber im Röhrchen kurz zum Sieden erhitzten Speichels zur Anwendung.

Nach dem Erstarren des Agars in den Schalen wurde dieser durch dreimaliges Auftupfen in Abständen mit einer einzigen kleinen Öse voll wässeriger Aufschwemmung des Bakteriums beimpft. Diese Aufschwemmung enthielt stets, wenn nicht ausdrücklich etwas anderes erwähnt wird, in 1 ccm sterilen Wassers eine Normalöse voll Bakterien von einer 24 Std. alten Bouillonagar-Schrägröhrchenkultur, die bei 29° C gezüchtet und ihrerseits wieder von einer 7 Tage alten Kultur abgeimpft worden war.

Nach etwa 20stündiger Bebrütung bei 29° C wurden die Agarplatten ausgewertet. Durch das dreimalige Auftupfen mit einer einzigen Ösenfüllung kamen die Bakterien in abgestufter Menge in den drei Kolonien zum Anwachsen. Auf diese Weise wirkte jede Speichelverdünnung auf drei verschieden dichte Bakterienaussaaten, die aber auf jeder Platte in ungefähr gleicher Abstufung wiederkehrten. Die Abschätzung der bakterienhemmenden Wirkung des Speichels wurde dadurch wesentlich erleichtert.

In den graphischen Darstellungen 1—37 und 39—43[1]) sind die vier Petrischalen entsprechend den Speichelverdünnungen 1 + 3 bis 4 + 0 durch die vier von links nach rechts aneinandergereihten Blocksäulen angedeutet, die in sich wieder in drei gleiche übereinanderliegende Einzelblocks unterteilt sind entsprechend den drei Impfstellen, von unten nach oben in abnehmender Bakteriendichte.

Hatte sich die Impfstelle zu einer kräftigen Kolonie entwickelt, dann wurde der entsprechende Einzelblock schraffiert; war sie aber nur hauchdünn oder punktförmig, dann erhielt der zugehörige Block ein liegendes Kreuz; und wenn an der Impfstelle gar keine Bakterienentwicklung festgestellt werden konnte, dann blieb der entsprechende Block frei (Abb. 1).

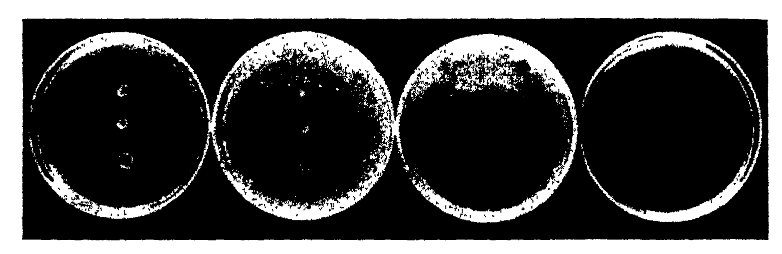
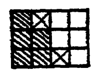


Abb. 1.



Beispiel für die Auswertung einer Speichelplattenserie.

Die Buchstaben links neben den Blocks bezeichnen die Versuchspersonen, deren Geschlechtszugehörigkeit ebenfalls angegeben ist.

Über den Blocks ist die der 8⁰⁰-Wetterkarte entnommene Wetterlage für 3 Tage vor und 2 Tage nach dem besonders bezeichneten Impftage kurvenmäßig eingetragen; und zwar bedeuten die Buchstaben an der Ordinate:

T = Berlin im zentralen Bereich eines Tiefs,
TR = Berlin im inneren Randgebiet eines Tiefs,
RT = Berlin im äußeren Randgebiet eines Tiefs,
R = Berlin im indifferenten Randgebiet zwischen Hoch und Tief,
RH = Berlin im äußeren Randgebiet eines Hochs,
HR = Berlin im inneren Randgebiet eines Hochs,
H = Berlin im zentralen Bereich eines Hochs.

Wenn die Abb. 2—37 auf das Vorliegen irgendwelcher Gesetzmäßigkeiten hin aufmerksam durchgemustert werden, dann ist festzustellen, daß die von Weigmann und Koehn (60) schon beobachteten zeitlichen Schwankungen in der Speichelwirkung unabhängig von der Versuchsperson tatsächlich z. T. in sehr auffälliger Weise hervortreten. Beim Vergleich mit den zugehörigen Wetterkurven ist dann auch unschwer zu erkennen, daß der Speichel die Bakterienentwicklung stärker hemmt bei fallender Kurve

[1]) Die zeitlichen Lücken in diesen und noch folgenden Darstellungen entsprechen immer Unterbrechungen in der Versuchsdurchführung.

und schwächer bei steigender Kurve. Daraus kann auf Grund der Erfahrungen mit anderen Mikroorganismen abgeleitet werden, daß auch Bact. prodigiosum offenbar bei nahendem oder sich verstärkendem Hoch besonders lebenskräftig und gegenüber Speichel widerstandsfähiger ist und umgekehrt besonders geschwächt und dem Speicheleinfluß unterliegend bei nahendem oder sich verstärkendem Tief. Das wäre dann lediglich ein Parallelverlauf zwischen der Lebenskraft und Vermehrungsintensität des Bakteriums einerseits und der Wetterdynamik andererseits. Diese Annahme einer bestehenden Parallelität wird durch weiter unten aufgeführte Versuche gestützt.

Darüber hinaus aber kann aus den Abbildungen unabhängig vom Verhalten der Bakterien auch ein Schwanken der Inhibinkonzentration oder -wirksamkeit entsprechend dem Wetterverlauf, und zwar in analoger Weise wie bei den Bakterien, entnommen werden. Denn der Speichel wirkt ganz besonders stark immer dann, wenn Berlin vor dem Versuchstage im Bereich eines stärkeren Hochdruckgebietes gelegen hat. Dagegen ist die Speichelwirkung außerordentlich schwach, wenn sich die Wetterkurve vor dem Impftage aus dem Bereich einer Zyklone hinaufbewegt hat.

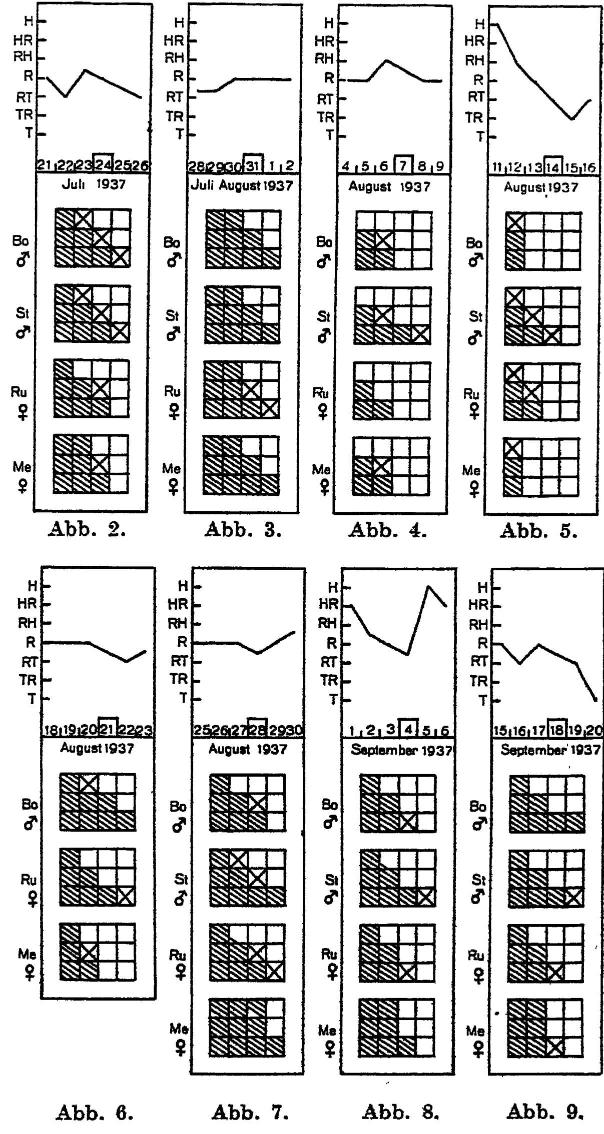


Abb. 2. Abb. 3. Abb. 4. Abb. 5.

Abb. 6. Abb. 7. Abb. 8. Abb. 9.

Abb. 2—9. Inhibinwirkung und Wetterverlauf.

Es scheint also, als ob der Speichel am Versuchstage unter dem Einfluß des Wetters der voraufgegangenen 1—3 Tage stünde, das Bakterium dagegen unter dem Einfluß des kommenden Wetters. Demnach würde der Speichel in seiner antibakteriellen Wirkung ebenso wie das Bakterium in

seiner Lebenskraft durch Tiefdruckgebiete gehemmt und durch Hochdruckgebiete gefördert; nur würde sich dieser Einfluß beim Speichel erst später bemerkbar machen. Will man aber diese gleichsinnige, nur zeitlich verschiedene Wetterabhängigkeit bei Speichel und Bakterien nicht anerkennen, dann bleibt nur die Möglichkeit, daß sich der Speichel bezüglich des Wettereinflusses umgekehrt verhält wie die Bakterien. Das ist jedoch aus logischen Gründen sehr unwahrscheinlich. An Hand erweiterter Versuche wird auf diese Frage später noch näher einzugehen sein.

Zunächst aber möge durch Besprechung der Abbildungen im einzelnen der Wettereinfluß auf die Inhibinwirkung bereits unter Zugrundelegung der soeben aufgestellten Hypothesen einer genaueren Betrachtung unterzogen werden. Schon dabei wird es sich erweisen, ob sie den Tatsachen gerecht werden oder nicht.

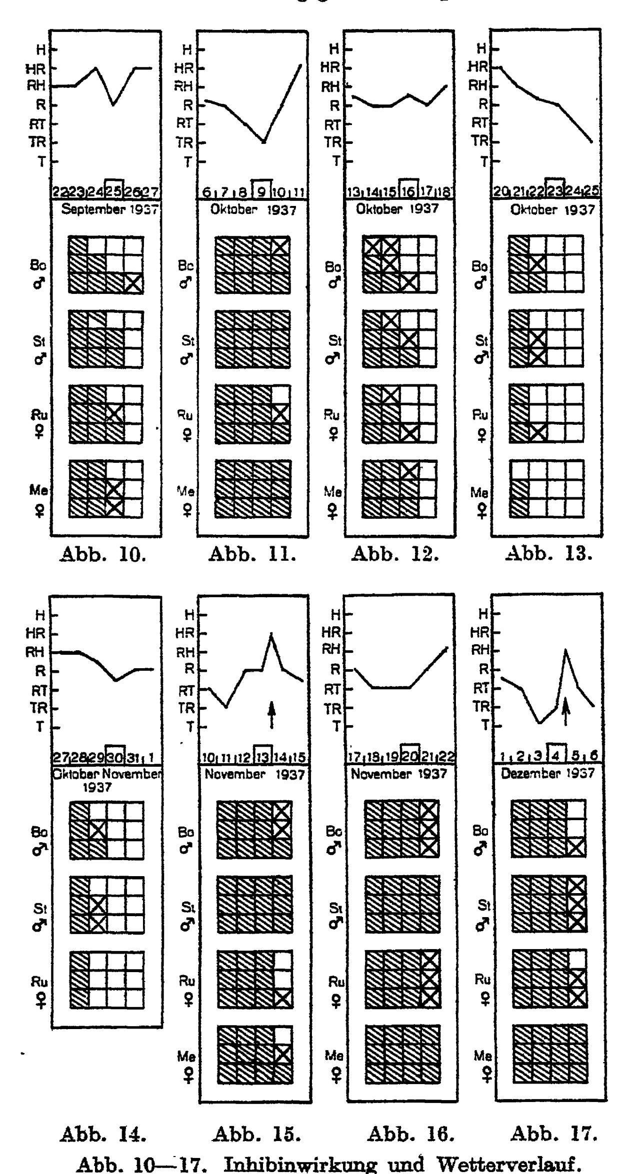


Abb. 10. Abb. 11. Abb. 12. Abb. 13.

Abb. 14. Abb. 15. Abb. 16. Abb. 17.

Abb. 10—17. Inhibinwirkung und Wetterverlauf.

Abb. 2: Inhibinwirkung mittelmäßig stark. Bakterien zwar bei fallender Wetterkurve geschwächt, aber Speichel ebenfalls dem Tiefpunkt am 22. entsprechend nur schwach wirksam.

„ 3: Hemmung der Bakterien noch geringer, weil erstens deren Entwicklungszeit nicht auf fallendem Kurvenast liegt und zweitens der Speichel wegen der voraufgegangenen Nähe eines Tiefs nicht sehr wirksam gewesen sein kann.

Abb. 4: Inhibinwirkung stärker. Bakterien bei fallender Kurve geschwächt, Speichel unter schwacher Hoch-Einwirkung vom Vortage.

„ 5: Inhibinwirkung sehr stark. Bakterien bei fallender Kurve geschwächt, Speichel noch unter dem Einfluß eines Hochs an den Vortagen.

Abb. 6: Inhibinwirkung wieder schwächer. Bakterien zwar auch bei fallender Kurve geschwächt, aber an Vortagen kein verstärkender Wettereinfluß auf Inhibine.

„ 7: Inhibinwirkung noch schwächer. Bakterienentwicklung bei schwach ansteigender Kurve, Speichel unter ähnlichem Einfluß wie bei Abb. 6.

„ 8: Inhibinwirkung mittelmäßig. Bakterien bei steil ansteigender Kurve gestärkt, aber Speichel offenbar auch noch unter schon etwas weiter zurückliegendem kräftigenden Wettereinfluß.

„ 9: Inhibinwirkung ähnlich wie bei Abb. 8. Bakterien bei abfallender Kurve geschwächt und Speichel entsprechend dem Kurvenknick am 16. 9. ebenfalls schwach wirksam.

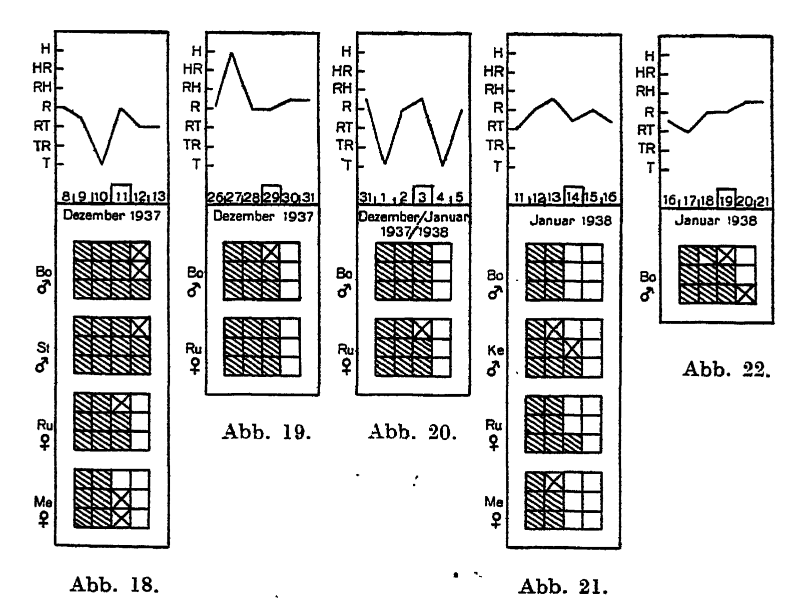


Abb. 18. Abb. 19. Abb. 20. Abb. 21. Abb. 22.

Abb. 18—22. Inhibinwirkung und Wetterverlauf.

Auf diese Weise können auch die Ergebnisse der noch folgenden Versuche ohne Zwang gedeutet werden. Von ihnen seien darum nur noch einige besonders hervorgehoben.

Abb. 11: Inhibinwirkung auffallend gering entsprechend dem Kurvenabfall aus geringer Höhe bis zu einem tiefen Wert am Versuchstage und unmittelbar darauffolgendem steilen Anstieg. Hier haben sich also unter dem belebenden Einfluß eines kommenden Hochs stehende Bakterien gegen nur schwach wirksamen Speichel durchzusetzen. Das ist eine in einigen weiteren Abbildungen ebenfalls zu erkennende besonders kritische Wetterlage hinsichtlich der Entstehung von Massenerkrankungen.

„ 13: Inhibinwirkung besonders groß entsprechend einem ununterbrochenen Abfall der Wetterkurve aus dem unmittelbaren Bereich eines Hochs vor dem Versuchstage bis in das Gebiet eines Tiefs nach dem Versuchstage. Hier trifft also noch stark wirksamer Speichel auf bereits sehr geschwächte Bakterien. Diese Wetterlage, die auch z. B. der Abb. 5 zugrunde liegt, ist das Gegenstück zu derjenigen von Abb. 11, d. h. typisch für das Abklingen von Epidemien.

„ 20: Die Bakterien sind in ihrer Entwicklung nicht sehr gehemmt worden, obwohl sie bei dem Steilabfall der Wetterkurve sehr geschwächt gewesen sein müssen. Vermutlich ist aber auch der Speichel ganz besonders schwach wirksam gewesen. Nur hierauf kann es zurückgeführt werden, daß die Bakterien trotz des ungünstigen Wettereinflusses vom 3. zum 4. noch bis zur Speichelverdünnung 3 + 1 gut gewachsen sind.

Unterschiede in der Inhibinwirkung zwischen den einzelnen Versuchspersonen konnten im Einklang mit den Ergebnissen der Schule Dold gleichfalls festgestellt werden. Fast könnte es so scheinen, als ob die weiblichen Versuchspersonen meistens stärker bakterienhemmenden Speichel geliefert hätten als die männlichen. Bei näherer Betrachtung aber ergibt sich eher der Eindruck, daß die männlichen Versuchspersonen auf Wetteränderungen schneller mit einer entsprechenden Änderung der Inhibinwirkung ihres Speichels reagiert haben als die weiblichen. Vor allem die im übrigen sehr „wetterfühlige“ männliche Versuchsperson Bo scheint das im Vergleich mit den weiblichen Personen Me und Ru in den kurz aufeinanderfolgenden Versuchen der Abb. 25—26, ferner 28—30 und auch 33—34 deutlich zu zeigen. Zum Beispiel sind in Abb. 29 die Platten von Bo schon bis zum unverdünnten Speichel bewachsen, diejenigen von Ru dagegen noch nicht. Erst am folgenden Tage sind die Speichelproben beider Personen in ihrer Wirkung gleich.

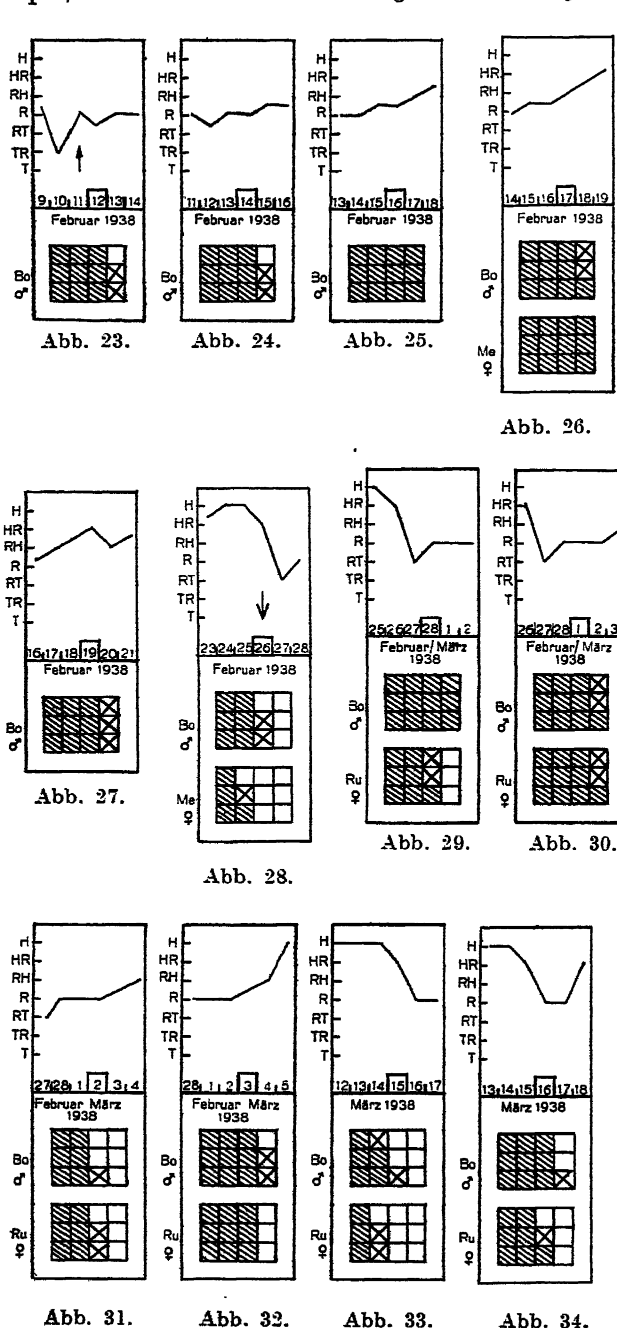


Abb. 23. Abb. 24. Abb. 25. Abb. 26. Abb. 27. Abb. 28. Abb. 29. Abb. 30. Abb. 31. Abb. 32. Abb. 33. Abb. 34.

Abb. 23—34. Inhibinwirkung und Wetterverlauf.

Daß in Abb. 26 der Speichel von Me die Bakterienentwick-

lung weniger gehemmt hat als der Speichel von Bo, kann, abgesehen von der eben gegebenen Begründung, auch darauf beruhen, daß Me am Tage vor der Versuchsanstellung aus einem Tiefdruckgebiet in den Alpen nach Berlin zurückgekehrt war.

Auffallend ist ferner der Unterschied zwischen den Inhibinwirkungen am 16. 2. (Abb. 25) und am 2. 3. (Abb. 31) 1938, obwohl die Wetterkurven einen sehr ähnlichen Verlauf nehmen. Hierfür eine Erklärung zu geben, ist in Anbetracht des Fehlens von Wiederholungen sehr schwer. Immerhin ist es vielleicht nicht allzu abwegig, wenn hier der Vermutung Ausdruck gegeben wird, daß für solche Unterschiede das „Vorwetter" im weiteren Rahmen verantwortlich zu machen ist. Denn bereits 8 Tage vor dem 16. 2. war das letzte, nur 5 Tage anhaltende Hoch zu verzeichnen, dem am 10. 2. ein schwächend wirkendes Tief folgte. Dagegen lag Berlin bis zum 26. 2., also nur 4 Tage vor dem 2. 3., 11 Tage lang mehr oder weniger deutlich im Bereich eines kräftigend wirkenden Hochs. Möglicherweise ist hierauf irgendwie die bessere Speichelwirkung am 2. 3. zurückzuführen, obwohl Berlin nach dem Hoch auch diesmal vorübergehend im Bereich eines Tiefs gelegen hat (27. 2.), das sich trotz des lang anhaltenden voraufgegangenen Hochs unmittelbar in der Speichelwirkung der Abb. 29 und 30 deutlich widerspiegelt.

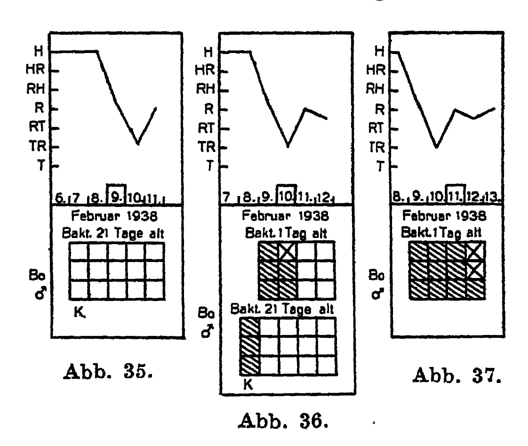


Abb. 35. Abb. 36. Abb. 37.

Abb. 35—37. Inhibinwirkung und Wetterverlauf.

Wenn auch vielleicht diese Erklärungsversuche für vereinzelte scheinbare Abweichungen von der Regel nicht zutreffend sein sollten, so ist doch jedenfalls zu bedenken, daß außer dem Wetter in der Nähe des Versuchstages noch zahlreiche andere Faktoren bekannter (UV-Strahlung) und unbekannter Art die bakterienhemmende Wirkung des Speichels beeinflussen können und sicher auch beeinflussen werden. Um so erstaunlicher ist die Tatsache, daß sich der eine Faktorenkomplex des „Vor- und Nachwetters" in seiner Wirkung aus der Gesamtheit der Umwelteinflüsse so deutlich heraushebt. Er muß schon sehr stark und folglich auch sehr bedeutungsvoll sein.

Von ihm wird nicht nur die Wirkung der wärmelabilen Inhibine des Speichels, sondern auch diejenige der gegenüber Bact. prodigiosum offenbar weniger wirksamen wärmestabilen Bestandteile beeinflußt. Über ihr Vorkommen im Speichel wurde schon von Dold und Ochsenreither (14) berichtet, nach denen diese Hemmungsstoffe vornehmlich gegen säurefeste Bakterien wie Mycobacterium tuberculosis gerichtet sein sollen. Aber auch Bact. prodigiosum reagiert darauf, wenn die Kulturen älter und weniger widerstandsfähig sind. Das ist den Abb. 35—36 zu entnehmen, in denen auch die z. T. angelegten Kontrollplatten mit gekochtem Speichel aufgeführt sind. Leider ist der Vergleich zwischen alter und junger Bakterienkultur nicht vollkommen. Im übrigen ist das Nach-

lassen der hemmenden Wirkung des gekochten (K) wie des nicht gekochten Speichels mit der Entfernung des Versuchstages vom zurückliegenden Hoch aus diesen Abbildungen ohne weiteres ersichtlich. Daß am 9. 2. tatsächlich der gekochte Speichel die Entwicklung des Bakteriums verhindert hat, geht auch daraus hervor, daß am gleichen Tage eine Abimpfung von derselben Kultur auf speichelfreien Bouillonagar sehr gut angewachsen ist.

In ihrer Gesamtheit haben somit die Versuche der Abb. 2—37 die eingangs erwähnte Auffassung von der zeitlichen Verschiebung der an sich gleichsinnigen Beeinflussung der Speichelhemmungsstoffe wie der Bakterien durch den unbekannten Wetterfaktor bestätigt. Scheinbar reagiert also das Bakterium auf das kommende, der Speichel aber auf das vorangegangene Wetter. Würden die Bakterien tatsächlich auf das kommende Wetter reagieren, dann müßte diesem eine Fernwirkung zukommen, die einer verstandesmäßigen Erfassung des Vorganges ziemlich unüberwindliche Schwierigkeiten entgegenstellt. Wahrscheinlich wird die lebende Zelle auf einen noch unbekannten Reiz reagieren, der auch zugleich eine Wetteränderung in der

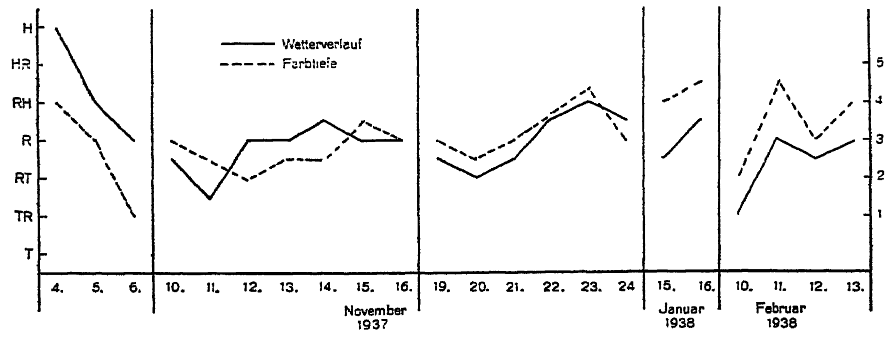


Abb. 38. Intensität der Farbstoffbildung durch Bact. prodigiosum und Wetterverlauf.

einen oder anderen Richtung zur Folge hat. Die Ursachenfrage, also die Frage nach dem wirksamen Agens bei der scheinbaren Wetterbeeinflussung der Organismen soll hier aber nur insofern berührt werden, als auf Grund aller bisherigen Versuchsergebnisse eine Strahlung (Düll, 17; Bortels, 3) oder Schwingung (Flohn, 22; Jordan, 29) als Ursache angenommen werden muß. Den Unterschied in der Geschwindigkeit des Reagierens bei Bakterien und Mensch könnte man sich leicht so erklären, daß der Weg der Reizleitung in der Bakterienzelle sicher wesentlich kürzer ist als im Menschen bis zum Ort der Inhibinentstehung.

Bact. prodigiosum und Wetterverlauf.

Aber selbst die Bakterienzelle reagiert nicht in allen Lebensäußerungen gleich schnell. Z. B. ist die Farbstoffbildung ein Vorgang, der bei Bact. prodigiosum wie auch bei anderen Mikroorganismen mehr am Ende der Gesamtentwicklung liegt, also ziemlich spät in Erscheinung tritt. Infolgedessen können auch die täglich ermittelten Werte für die wechselnde Stärke in der Rotfärbung von Bact. prodigiosum-Kulturen nicht den entsprechenden Werten auf der Wetterkurve vorauseilen, sondern höchstens zeitlich mit ihnen zusammenfallen. So zeigt Abb. 38 an einer Reihe von Versuchen, daß die Änderungen in der Farbtiefe der Kolonien zeitlich mei-

stens mit entsprechenden Wetteränderungen zusammentreffen. Nur in der Zeit vom 11.—16. 11. reagiert das Bakterium mit der Farbstoffbildung etwa 1 Tag später als das Wetter.

Die Versuche wurden so ausgeführt, daß eine Impföse voll einer in gleicher Weise hergestellten Aufschwemmung des Bakteriums wie bei den Speichelversuchen auf kochsalzfreiem Bouillonagar in der Petrischale durch Auftupfen verimpft wurde. Nach 24 Std. Bebrütung bei 29° C wurde die Intensität der Rotfärbung der entstandenen Kolonie durch Vergleich mit Farbtafeln zahlenmäßig festgelegt.

Dabei ist selbstverständlich zu bedenken, daß die Farbstoffbildung durch Bact. prodigiosum noch von vielen anderen Faktoren abhängig ist, z. B. auch vom Alter der Kulturen und vom Rhythmus der Überimpfungen. Vorversuche hatten ergeben, daß die Bildung des Farbstoffes bei täglicher Wiederholung der Überimpfung des verwendeten Stammes nach 6 Tagen schon vollständig ausblieb, und daß eine solche „erschöpfte" Kultur nach 7 Tagen Aufbewahrung bei 26° C soweit „ausgeruht" war, daß sie wieder in ursprünglicher Stärke roten Farbstoff bildete.

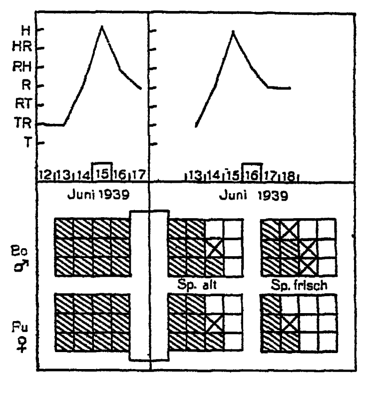


Abb. 39.

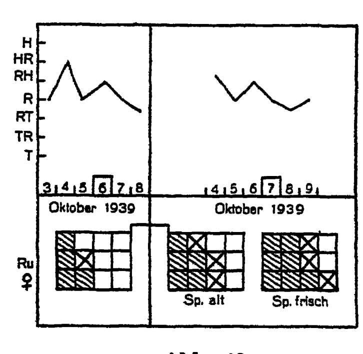


Abb. 40.

Abb. 39—40. Wirksame Beschaffenheit des Speichels und Wetterverlauf.

Auf Grund dieser Feststellung wurden die obenerwähnten Impfperioden zum Zwecke der Erhaltung gleichmäßiger Vitalität und gleichmäßigen Farbstoffbildungsvermögens der Bakterien eingeführt. Trotzdem hat der verwendete Stamm später mit ganz kurzen Unterbrechungen überhaupt keinen Farbstoff mehr gebildet. Über die Ursache kann vorläufig nichts Sicheres ausgesagt werden.

Aus dem Gleichlauf der Farbstoffkurven mit den Wetterkurven wird als Bestätigung der Ergebnisse der Speichelversuche geschlossen, daß sich andere, schon früher in Erscheinung tretende Lebensäußerungen wie Vermehrungsgeschwindigkeit, gewisse Stoffwechselreaktionen und Widerstandsfähigkeit gegenüber äußeren Hemmungsfaktoren schon ändern, kurz bevor sich die entsprechende Wetterlage ausbildet.

Speichelbeschaffenheit und Wetterverlauf.

Die im Gegensatz hierzu auf weiter zurückliegende scheinbare Wetterursachen erfolgenden Änderungen in der wirksamen Beschaffenheit des Speichels wurden zunächst nur angenommen. Jedoch ließ sich hierfür auch ein

experimenteller Beweis erbringen, indem frisch gewonnener Speichel mit solchem, der bereits am Vortage verwendet worden war, verglichen wurde. Auf diese Weise konnten zwei Speichelproben, die von derselben Versuchsperson unter verschiedenen Wettereinflüssen erzeugt worden waren, auf ein und dieselbe, unter gleichen Wettereinflüssen stehende Bakterienkultur zur Wirkung kommen.

Derartige Versuche, wie sie in den Abb. 39—43 wiedergegeben sind, können aber nur dann etwas aussagen, wenn sie in einer Zeit zur Ausführung kommen, in der sich die Wetterkurve von möglichst hohen Werten bis zu möglichst tiefen hinunter und dann im Idealfall auch wieder hinauf bewegt. Denn dann muß an einem der Versuchstage der 24 Std. alte Speichel wirksamer sein als der frische, wenn die bisher gemachten Annahmen richtig sind. Bei umgekehrtem Wetterverlauf lassen sich aus den Versuchen keine sicheren Schlüsse ziehen, weil die Speichelwirkung nach Dold, Lächele und Du Dscheng Hsing (13) ohnehin mit der Zeit deutlich abnimmt.

Bei der großen Abhängigkeit vom Zufall — die Prognose auf Grund der Wetterkarten traf nicht immer zu — wurden solche Versuche mit negativem Ergebnis natürlich ebenfalls öfter ausgeführt.

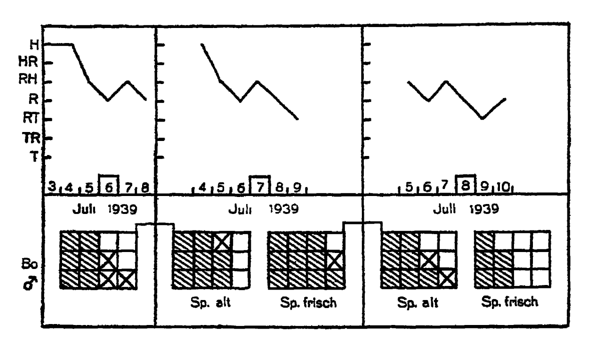


Abb. 41.

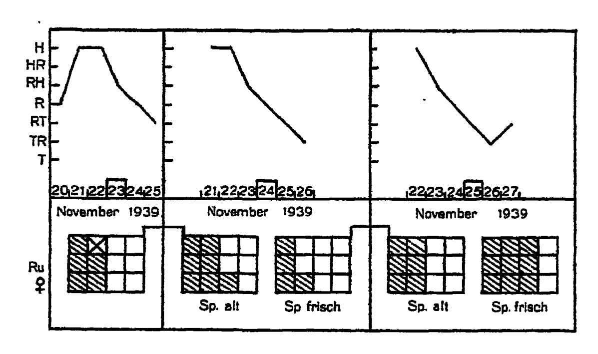


Abb. 42.

Abb. 41—42. Wirksame Beschaffenheit des Speichels und Wetterverlauf.

Dargestellt ist aber nur einer in Abb. 39. Er ist offenbar 1 Tag zu früh abgebrochen. Am 15. befinden sich die Bakterien noch unter Hoch-Einfluß, während der Speichel wegen der vorangegangenen Tiefdruckwetterlage nur ganz schwach wirksam sein kann. Am folgenden Tage ist dieser Speichel scheinbar wirksamer geworden. Da er aber in seiner Wirkung hinter derjenigen des frischen Speichels zurückbleibt, beruht die scheinbare Wirksamkeitssteigerung auf einer Schwächung der Bakterien-Widerstandskraft. Ein Blick auf die Wetterkurve läßt das auch sofort verständlich erscheinen. Vermutlich ist außerdem der frische Speichel vom 16. entsprechend dem vorübergezogenen Hoch inhibinreicher, so daß sich bei Fortführung des Versuchs am 17. wahrscheinlich eine Überlegenheit des dann alten Speichels über den frischen vom 17. ergeben hätte.

Die Abb. 40—43 enthalten solche Tage, an denen der vom Vortage her aufbewahrte Speichel trotz der durch die 24stündige Lagerung bei 4—8° C im Dunkeln bedingten Wirksamkeitsverminderung doch noch wirksamer ist als der frisch gewonnene. Für alle diese Versuche ist die abfallende Wetterkurve charakteristisch. Z. B. ist in Abb. 42 am 24. der alte Speichel deutlich schwächer wirksam als der frische. Die an das Hoch

vom 21. und 22. gebundenen verstärkenden Einflüsse auf die Speichelinhibine kommen in dem Speichel vom 24. zum erstenmal voll zur Wirkung, so daß dieser bei der seit dem 23. und auch weiterhin noch abfallenden Wetterkurve am 25. stärker bakterienhemmend wirkt als der frische Speichel, der bereits von dem weniger günstigen Wetter des abziehenden Hochs beeinflußt wird.

Abb. 43 zeigt dieselben Verhältnisse gleichzeitig an einer jungen, 1 Tag alten und an einer 7 Tage alten Bakterienkultur, wenn auch entsprechend dem Wetterverlauf weniger deutlich. Die stärkere Speichelwirkung bei den bereits durch das Alter geschwächten Bakterien tritt klar hervor. Aber der Unterschied in der Bakterienhemmung von Tag zu Tag ist trotzdem bei beiden Kulturen gleich. Auffallend ist ferner wieder das unterschiedliche Verhalten der beiden Versuchspersonen. Bo reagierte offenbar wieder etwas schneller als Ru, was besonders aus den etwas deutlicheren Bil-

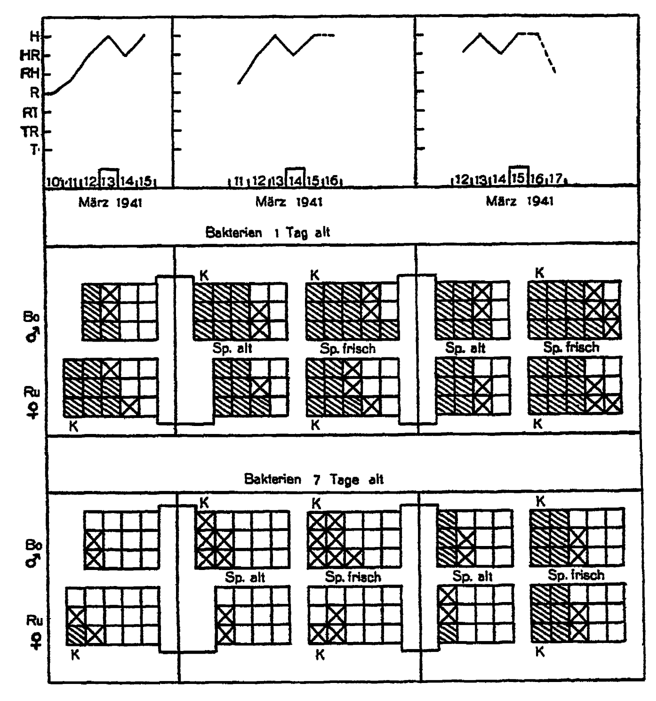


Abb. 43[1]). Wirksame Beschaffenheit des Speichels und Wetterverlauf.

dern für die 7 Tage alten Bakterien hervorzugehen scheint. Hier zeigen auch die teilweise angelegten Kontrollplatten abermals, daß die antibakterielle Wirkung des aufgekochten Speichels ebenso wie diejenige des nicht gekochten den Wetteränderungen parallel verlaufenden Schwankungen unterliegt. Allerdings kann über Änderungen in der wirksamen Beschaffenheit des aufgekochten Speichels noch nichts Sicheres ausgesagt werden, weil hier die Vergleiche zwischen altem und frischem Speichel fehlen.

Folgerungen aus den Versuchsergebnissen und ihre Nachprüfung an epidemiologischen Daten.

Nach allem, was in den vorstehenden Untersuchungen gezeigt werden konnte, ist also daran festzuhalten, daß offenbar ganz allgemein für den Menschen — und wegen des Vorkommens der Inhibine bei höheren Pflanzen auch für diese — wie für Mikroorganismen und darum wohl sicher für alle

[1]) Die Wetterkarte vom 16. 3. konnte nicht eingesehen werden.

Organismen folgende Beziehung gilt: Bei herannahendem oder sich verstärkendem Tief macht sich eine schwächende oder lähmende Wirkung und umgekehrt bei herannahendem oder sich verstärkendem Hoch eine belebende, kräftigende Wirkung auf Zellen, Gewebe und Gesamtorganismus bemerkbar. Wenn hier einmal von allen den Ursachen abgesehen wird, die den Ausbruch gewisser Krankheiten vorbereiten können, indem sie das Widerstandsniveau senken, wie z. B. falsche Ernährung, Mangel an Vitaminen, Licht oder Schlaf u. a. m., dann ist die eigentliche, letzte Ursache in dem Unbekannten zu suchen, das zugleich eine Tiefdruckwetterlage herbeiführt. Dieses Unbekannte bringt eine Schwächung der Zellfunktionen mit sich, die unmittelbar zu einer Krankheit führen kann. Oder aber das andere, belebend und kräftigend wirkende Unbekannte läßt bei einem Umschwung zur Hochdruckwetterlage die Krankheit dann zum Ausbruch kommen. Es ist darum wohl anzunehmen, daß gewisse Krankheiten um so zahlreicher und schwerer auftreten, je stärker das voraufgegangene Tiefdruckgebiet ist, je plötzlicher das Hoch erscheint und je stärker und ausgedehnter auch dieses ist.

Man wird also bei allen bioklimatischen Untersuchungen nicht nur das während eines biologischen Vorganges herrschende Wetter, sondern auch das „Vor- und Nachwetter" zum Vergleich mit heranziehen müssen. Diese Forderung ist schon von De Rudder (9) bezüglich des Jahreszeiteneinflusses erhoben worden. Seine Feststellung „Man hat, wie ich glaube, beim Studium von Jahreszeitenwirkungen diesen Faktor der „Änderung" gegenüber einer voraufgehenden Jahreszeit zu wenig beachtet. Man hat viel zu sehr statisch und viel zu wenig dynamisch gedacht", gilt fast noch mehr für die Wettereinwirkung. Jusatz (30) weist ebenfalls darauf hin, indem er sagt, daß Durchzug von Kaltfronten allein nicht das Verhalten einer Grippeepidemie, insbesondere ihre Zugrichtung und -geschwindigkeit bestimme; es müsse vor ihrem Eintreffen schon eine „epidemische Situation" (De Rudder, 8) vorgelegen haben. Auch Bauer (2) meint, daß die Disposition zur Grippe durch das Vorwetter beeinflußt sei, das sicher einen sehr wesentlichen Bestandteil derjenigen äußeren Einflüsse darstellt, welche die Bevölkerung, wie Rimpau (nach Jäschock, 28) sagt, unspezifisch in Erkrankungsbereitschaft versetzen.

Außer dieser sind aber noch einige weitere allgemeine Betrachtungen und Schlußfolgerungen aus den Versuchsergebnissen abzuleiten. So ist nunmehr grundsätzlich zu unterscheiden zwischen jenen Krankheiten, die schon allein durch den Tiefdruckfaktor ausgelöst werden, und solchen, die zwar auch durch diesen vorbereitet, jedoch erst durch den nachfolgenden Hochdruckfaktor vollkommen und erkennbar werden. Zur ersteren Gruppe gehören z. B. die Gemütskrankheiten des Menschen sowie alle Krankheiten, die auf Stoffwechsellähmungen unmittelbar beruhen, zur anderen Gruppe z. B. Apoplexien, die nach Lischka (35) gehäuft bei Kaltlufteinbrüchen auftreten sollen, oder Embolien, nach Raettig und Nehls (52) ebenfalls bei Kaltfront-Durchzügen besonders häufig, und dann vor allem Infektionskrankheiten.

Schon im vorigen Jahrhundert ist Wunderlich (44) der öfters nachteilige Einfluß eines plötzlichen Überganges von schlechter zu schöner und trockener Witterung aufgefallen. Der amerikanische Arzt Petersen (41) und der deutsche Bearbeiter seiner umfangreichen Schriften, Holzmann (27), stellten allerdings eine Theorie auf, die ungefähr das Gegenteil von dem besagt, was aus den Speichelversuchen geschlossen werden muß. Nach ihnen soll gerade Polarluft oder die Kaltfront oder, was damit ungefähr gleichbedeutend wäre, antizyklonale Wetterlage anfällig machen,

indem sie zur Gefäßkontraktion und damit zu Sauerstoffmangel in den Geweben und zu mangelnder Widerstandskraft gegen Bakterien führe. Bei nachfolgender Warmfront und Aufweitung der Gefäße sollen dann die Bakterien zu den geschwächten Geweben hingespült werden. Den Bakterien wird also bei der Krankheitsentstehung eine passive, nebensächliche Rolle zugeschoben. Ähnlich hat sich Arnoldi (1) geäußert. Nach ihm soll das Wetter die Gewebsatmung und damit die Widerstandskraft des Organismus beeinflussen. Soweit deckt sich allerdings seine Auffassung mit der hier vertretenen, nach der die Sauerstoffversorgung der Zellen durch Tief gehemmt und durch Hoch gefördert zu werden scheint. Aber die Mikroorganismen sollen dann nach Arnoldi durch diese Änderung in den Geweben auf rein passivem Wege pathogen bzw. apathogen werden.

Die Bedeutung der pathogenen Mikroorganismen als den Erregern von Infektionskrankheiten wird vor allem von Wolter (63—66), dem extremsten Verfechter Pettenkoferscher Anschauungen, geleugnet. Er setzt dafür eine bis heute noch niemals experimentell nachgewiesene Unbekannte ein, das gasförmige, aus einem siechhaften Boden aufsteigende, krankmachende „Miasma". Aber auch andere Autoren sind durch das Versagen der auf der klassischen Bakteriologie aufgebauten Epidemiologie dazu geführt worden, die Ansicht von den Mikroorganismen als Krankheitsursachen gänzlich abzulehnen. Hoering (26) meint z. B., daß das Bakterium wohl als einigermaßen spezifisches Symptom, nicht aber als Erreger der Krankheit erscheine.

Die Kluft, die sich damit zwischen den Krankheitslehren der Pasteurschen und Kochschen Schule einerseits und der auf den Lehren Sydenhams, Virchows und Pettenkofers fußenden Richtung andererseits aufzutun scheint, läßt sich jedoch mit einer Deutung der Tatsachen und Beobachtungen, wie sie die Ergebnisse der mitgeteilten Speichelversuche gestatten, leicht überbrücken. Es ist nur für das gasförmige „Miasma" wieder der pathogene Mikrobe einzusetzen und für die „epidemische Situation" der allerdings noch nicht näher bekannte Tiefdruckfaktor oder für Pettenkofers „örtliche und zeitliche Disposition z" der schroffe Wechsel von Tief zu Hoch, der mit darüber entscheidet, ob eine Infektion stattfindet, und ob der Wirtsorganismus erkrankt oder nicht.

Bakterienumwandlung.

Wenn bei vordringendem Hoch die Bakterien oder sonstigen Mikroorganismen oder Viren plötzlich virulent werden und in weitesten Gebieten gleichzeitig die Krankheit ausbricht, dann ist anzunehmen, daß die Erreger bereits vorher im avirulenten Zustand vorhanden waren.

Schon Virchow (nach Wolter, 66) hat von der „Endemizität" der Krankheitsursachen gesprochen. Der Ausbruch einer Epidemie sei durch Steigerung der endemischen Ursachen infolge Witterungseinflüssen erklärbar. Eine Übertragung würde nur vorgetäuscht. In Wirklichkeit ist sie jedoch nicht ausgeschlossen, sondern hat nur für Entstehung und Ausbreitung der Seuche an Bedeutung verloren. Infektion ist zwar unbedingte Voraussetzung, kann aber nur bei entsprechender Wetterlage zur Massenerkrankung führen. Dieser Auffassung kommt auch die unter Anlehnung an Kairies ausgesprochene Vermutung von Flohn (23) sehr nahe, daß die Grippeschübe auf durch Witterungseinflüsse gesteigerte Aktivität der Erreger zurückzuführen seien. Diese würde noch weiter gefördert durch Schäden der Resistenz. Die Kontaktinfektion verursache dagegen nur die weitere Verbreitung der Erreger.

Da aber z. B. während einer Grippeepidemie verschiedene Erreger (Bakterien und Viren) festgestellt werden konnten, haben Eckardt und Jäschock (28) sogar die Ansicht vertreten, daß es vielleicht überhaupt keine spezifischen Grippeerreger gibt. Andererseits wäre in Anbetracht einer gewissen Inkonstanz der Bakterienarten mit Lubarsch (nach Wolter, 66) auch einzuräumen, daß viele der als besondere Arten geschilderten Bakterien nichts anderes als Standort- und Umweltspielarten darstellen und in einigen wenigen Arten zusammenzufassen sind.

Aus den vorliegenden und anderen, noch unveröffentlichten Untersuchungen geht unzweideutig hervor, daß das Wetter zu Änderungen be-

stimmter Merkmale von Bakterienkulturen wie Farbstoffbildung, Schwärmtätigkeit oder Widerstandsfähigkeit gegenüber Speichelinhibinen in Beziehung steht. Es ist darum wohl möglich, daß die gleiche oder eine ähnliche unbekannte, irgendwie wettergebundene Ursache auch an sich konstantere Rassen- und Artmerkmale der Mikroorganismen abschwächend oder verstärkend oder gänzlich abändernd beeinflussen kann, auch die Pathogenität. So würden dann die verschiedentlich experimentell offenbar geglückten, aber zumeist doch rein zufällig erscheinenden Bakterienumwandlungen verständlicher. Vielleicht wird es unter Berücksichtigung der örtlich und zeitlich verschiedenen Wetterlagen einmal möglich sein, die Umwandlungsbereitschaft eines Bakteriums, die nach Lotze (36) „spontan“ auftritt, zum Wetterverlauf in Beziehung zu bringen. Das wäre für die Lösung epidemiologischer Probleme von allergrößter Bedeutung. Daneben ist natürlich für das Zustandekommen einer Umwandlung auch eine für die neu entstehende Form günstige Beschaffenheit anderer Umweltfaktoren, wie z. B. des Nährbodens, erforderlich.

Kairies (31) hat z. B. die Entwicklung pathogener Bakterien und Viren in den Atmungsorganen durch verschiedene „Reize“ (wohl infolge Niederhaltung der natürlichen Abwehrkräfte) „provozieren“ können. Jedoch ist ihm das nicht zu jeder Zeit gelungen. Er vermutet deshalb die Mitwirkung bestimmter „Wetterlagen“. Diese werden auch wohl die Antwort auf nachfolgende Frage Pfeiffers (43) bezüglich seines Influenza-Bazillus geben können: „Vor allem werden wir die jetzt noch ganz rätselhaften Bedingungen aufzuklären haben, welche den Influenza-Erreger, . . ., so verändern, daß er, . . ., sich in die hochpathogene Form umwandelt, die ihn befähigt, in plötzlichem Ausbruch die gesamte Menschheit seiner krankmachenden Wirkung zu unterwerfen.“ Über teils „spontane“ Umwandlungen hämolytischer in nicht hämolytische Scharlachstreptokokken und umgekehrt berichtet neben anderen auch Clauberg (5). Er hat diese Versuche auf künstlichen Substraten durchgeführt, was deshalb besonders bedeutungsvoll erscheint, weil damit der Einwand, die Umwandlungen seien durch Änderungen der Widerstandskraft des Wirtsorganismus vorgetäuscht, entkräftet wird. Andererseits wird die epidemiologische Bedeutung dieser Feststellungen dadurch unterstrichen, daß solche Umwandlungen auch im Rachen der Scharlachkranken auftreten sollen. Erwähnt sei ferner, daß von Buza (4) die „Abspaltung“ avirulenter und auch sonst anders gearteter Formen des Milzbrandbazillus feststellte und Heuer (23) bei Nachprüfung der Ergebnisse von Much, Timm und Fuchs gefunden haben will, daß Bac. subtilis, Proteus u. a. nicht nur zuweilen durch Milchsäure-Einwirkung, sondern auch ohne künstliche Beeinflussung „spontan“ pathogen werden können. Eine Erklärung dieser auffälligen Befunde war nicht möglich. Schließlich ist es Lotze (36) angeblich geglückt, experimentell durch entsprechende Milieuabänderungen Bact. typhi, Bact. paratyphi und Bact. coli ineinander umzuwandeln.

In allen diesen Fällen wird wahrscheinlich der Wetterfaktor entscheidend mitgewirkt haben[1]). Ob dieser immer eine Umwandlung der Mikroorganismen oder eine Änderung der Resistenz oder beides zur Folge hat (entsprechend den Ergebnissen der Speichelversuche), kann natürlich nur entschieden werden, wenn das Verhalten des Erregers gesondert von dem des Wirtsorganismus mit dem Wettergeschehen verglichen wird.

Den Verlust der hämolytischen, pathogenen Eigenschaften der Scharlachstreptokokken konnte Jettmar (5) dadurch erzielen, daß er Speichel eines Gesunden auf die Bakterien einwirken ließ. Weigmann und Koehn (60) haben die gleiche Wirkung der von Dold „Mutine“ genannten Abwandlungsstoffe des Speichels auf Diphtheriebazillen feststellen können.

[1]) Selbstverständlich nur unter der Voraussetzung, daß die hier aufgeführten Arbeiten experimentell einwandfrei sind, worüber mir mangels medizinischer Erfahrung nicht in jedem Falle ein Urteil möglich ist.

Wenn dagegen Schäfer (55) keine derartige Speichelwirkung gefunden hat, so braucht das nach den hier mitgeteilten Versuchsergebnissen durchaus keine Widerlegung der Befunde von Weigmann und Koehn zu sein, die selbst von unerklärbaren zeitlichen Schwankungen in der Inhibin- und Mutinwirkung berichten. Solche Versuche können eben nur positiv ausfallen, wenn sich das Wetter zur Zeit der Versuchsausführung entweder vom Hoch zum Tief hin verändert (Umwandlung von pathogen nach apathogen) oder umgekehrt vom Tief zum Hoch (Überführung apathogener in pathogene Keime). Bei experimenteller Nachprüfung dieser aus den Speichel-Wetter-Untersuchungen gezogenen Schlußfolgerung müßten die Versuche natürlich, um gesicherte Ergebnisse zu bekommen, sehr oft wiederholt werden. Für die bisher mitgeteilten Bakterienumwandlungen fehlt aber meistens sogar jede Zeitangabe; oder die Versuchszahl ist zu klein, um daraus bezüglich der Wettereinwirkung etwas entnehmen zu können.

Die aufgestellten Theorien über die epidemiologischen Teilprobleme Wetter/Bakterienumwandlung und Wetter/Resistenz können deshalb im Augenblick noch nicht durch entsprechende Literaturangaben gestützt werden. Dagegen ist es möglich, die aus den Speichelversuchen abgeleitete Theorie über das Gesamtproblem des Seuchenentstehens und -vergehens an Hand von eigenen Beobachtungen und Angaben in der medizinischen Literatur[1]) nachzuprüfen.

Die klimatischen Bedingungen müßten, um das noch einmal festzuhalten, besonders günstig für den Ausbruch einer Seuche sein, wenn auf starke Tiefdruckgebiete ziemlich plötzlich ein starkes Hoch folgt, und die Seuche müßte wieder abklingen und verschwinden, wenn dieses Hoch wieder von Tiefdruckwetter abgelöst wird. Für einige Infektionskrankheiten, in erster Linie solche des Menschen, soll die Richtigkeit dieser angenommenen Beziehungen nunmehr nachgewiesen werden.

Infektionskrankheiten des Menschen.

Wenn auch der Einzelfall nicht immer so klar und eindeutig die Beziehung zu den meteorologischen Vorgängen zeigen wird, so setzt sich doch die Epidemie aus Einzelerkrankungen zusammen. Deshalb und wegen seiner historischen Bedeutung sollen die folgenden Betrachtungen durch kurze Erwähnung von Pettenkofers berühmtem Cholera-Selbstinfektionsversuch eingeleitet werden, der damals schon der Welt beweisen sollte, daß außer dem Erreger auch noch die „persönliche Empfänglichkeit" und die „örtliche und zeitliche Disposition" (ungefähr dem Wetterfaktor gleichzusetzen) für den Ausbruch der Krankheit unbedingte Voraussetzung sind.

Nach Gruber (24) wurde dieser Versuch am 7. 10. 1892 ausgeführt. Der Erfolg entsprach den Erwartungen Pettenkofers. Er erkrankte nicht, obwohl in seinen Stuhlgängen Choleravibrionen nachgewiesen wurden. Dagegen zog sich Emmerich, der den Versuch seines Lehrers bald darauf an sich selbst wiederholte, eine ziemlich schwere Choleradiarrhoe zu.

Soweit das an den damaligen Wetterkarten der bayerischen Wetterwarte zu erkennen ist, wurde München am 3. 10. vom Ausläufer eines spanischen Hochs berührt und am 4. von einem Hoch, dessen Kern über Böhmen lag.

[1]) In der Phytopathologie liegen für diese Zwecke brauchbare Unterlagen noch nicht vor. Aus der großen Zahl der medizinischen Arbeiten konnten nur einige neuere spezielle sowie einige das Gesamtgebiet umfassende Berücksichtigung finden.

Am 5. befand sich München zwischen einem Tief über England und einem ausgedehnten russischen Hoch, das sich am 6. nach NO zurückzog, während sich über Frankreich ein weiteres starkes Tief gebildet hatte mit ebenfalls nordöstlicher Zugrichtung. Am 7. lag der Kern eines großen Tiefs über der Nordsee, das sich dann langsam ostwärts bewegte. Zu diesem kam am 9. südlich von München noch ein zweites mit dem Kern in Oberitalien.

Am 7. 10., dem Tage der Versuchsausführung, lag München also auf einer fallenden Wetterkurve. Vielleicht hat Emmerich die Wiederholung des Versuchs an einem Tage vorgenommen, an dem München auf ansteigender Wetterkurve lag.

Erkältungskrankheiten.

Verschiedentlich wurden die Tage, an denen mehr oder weniger heftig und verbreitet Erkältungskrankheiten wie Schnupfen, Halsentzündung und Bronchitis bei den Versuchspersonen der Speicheluntersuchungen und im engeren und weiteren Bekanntenkreis auftraten, vermerkt und später ihre Lage auf zugehörigen Wetterkurven nach Art der Speichelversuche ermittelt[1]). Das Ergebnis ist den Abb. 15 und 17, 23—28 und 44—52 zu entnehmen, in denen die Zeit des Einsetzens der Erkältungen durch aufwärts weisenden und die des Abklingens durch abwärts weisenden Pfeil gekennzeichnet ist.

Der 4. 12. 1937 (Abb. 17) ist ein Tag mit zahlreichen Fällen von Erkältungen. Vom 4. zum 5. baut sich zwischen einem ostwärts abziehenden und einem von Nordwest vordringenden Tief vorübergehend ein schmaler Hochdruckrücken auf. Auch in der Nacht vom 13. zum 14. 11. 1937 (Abb. 15) haben sich zahlreiche Menschen einen Schnupfen zugezogen. Zu dieser Zeit hat sich ebenfalls hinter einem abziehenden Tief vorübergehend ein Hochrücken ausgebildet.

Dieses plötzliche Auftreten von „Zwischenhochs" zwischen zwei Tiefdruckgebieten scheint überhaupt eine sehr charakteristische Wetterlage für Erkältungskrankheiten zu sein. Das geht sehr deutlich aus einigen weiteren Abbildungen hervor, in denen solche kleinen, schnell vorüberziehenden Hochausläufer von Erkältungen und ähnlichen Infektionskrankheiten begleitet sind. Z. B. wurde vermerkt, daß sich in der Nacht vom 6. zum 7. 12. 1940 (Abb. 51) sehr viel Menschen erkältet haben. Sogar kurz hintereinander (Abb. 50), ja in zwei aufeinanderfolgenden Nächten (Abb. 52) können einzelne Erkältungsschübe ausgelöst werden, wenn zwischen starken Tiefdruckgebieten Hochausläufer vorüberziehen.

Beim weniger plötzlichen Eintreffen der Antizyklone, die dann aber auch meistens beständiger ist, können ebenfalls Erkältungsepidemien ausbrechen, wie die Abb. 44—46 und 49 zeigen. Jedoch am wirksamsten sind offenbar Wetterlagen wie die in Abb. 48. Hier steigt die Kurve vom Tief am 17. und 18. 12. 1937 bis zum Hoch am 21. und 22. steil an. Vom 20. an sind starke Erkältungen weit verbreitet, und verschiedentlich müssen Schulklassen wegen Scharlach, Masern und Windpocken geschlossen werden.

Der vollständige Verlauf einer Erkältungsepidemie vom Beginn bis zum

[1]) Da die gewöhnlichen Erkältungskrankheiten weder durch Krankenhäuser noch durch die Gesundheitspolizei statistisch erfaßt werden, sei es mir ausnahmsweise gestattet, in diesem Falle eigene Beobachtungen mit dem meteorologischen Geschehen zu vergleichen, zumal die Diagnose einer gewöhnlichen Erkältung keine besonderen medizinischen Kenntnisse erfordert und ich mich somit im übrigen nicht weiter auf medizinisches Gebiet begebe.

Erlöschen konnte in zwei Fällen beobachtet werden, nämlich vom 21.—24. 11. 1937 (Abb. 47) und vom 11.—27. 2. 1938 (Abb. 23—28). Am 21. 11. 1937 stellen sich weit verbreitet leichtere Erkältungen (Schnupfen) ein, die am 24. abklingen und verschwinden. Ganz entsprechend ist der Wetterverlauf. Der zweite Fall beginnt am 11. 2. 1938 mit Erkältungen, denen an den nächsten Tagen noch weitere folgen, bis diese Welle am 26. abklingt und am 27. völlig erlischt. Auch hier wieder ein vollkommen entsprechender Verlauf der Wetterkurve.

Damit dürfte wohl zur Genüge bewiesen sein, daß die in ihren Ursachen noch so wenig geklärten Erkältungskrankheiten (Flach, 21) epidemiologisch den Gesetzmäßigkeiten unterliegen, die sich aus den Speichelversuchen ergeben. Wenn Schnupfen von einem in der Nase dauernd saprophytisch vegetierenden Virus hervorgerufen wird, das aus bisher unbekannten Gründen plötzlich virulent wird (Reiter und Möllers, 53), dann kann jetzt gesagt werden, wo diese Gründe zu suchen sind, nämlich in dem schroffen Tief-Hoch-Wechsel, womit die Ursache selbst allerdings noch nicht genannt ist. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß man sich auch bei ausgesprochen warmem Wetter einen Katarrh zuziehen kann, entspricht die Bezeichnung „Erkältung" nur insofern den tatsächlichen Verhältnissen, als das Abziehen eines Tiefs und der Verstoß eines Hochausläufers in unseren Breiten häufig, jedoch nicht immer, mit einem Temperatursturz verbunden ist. Dieser kann ebenso wie Zugluft in der abkühlenden Wirkung auf einzelne Körperteile (Schmidt und Kairies, 56) die Entstehung eines Katarrhs höchstens begünstigen. Liese (33) hat z. B. bei seiner schwachen Luftströmen ausgesetzten Versuchsperson niemals eine Erkältung feststellen können.

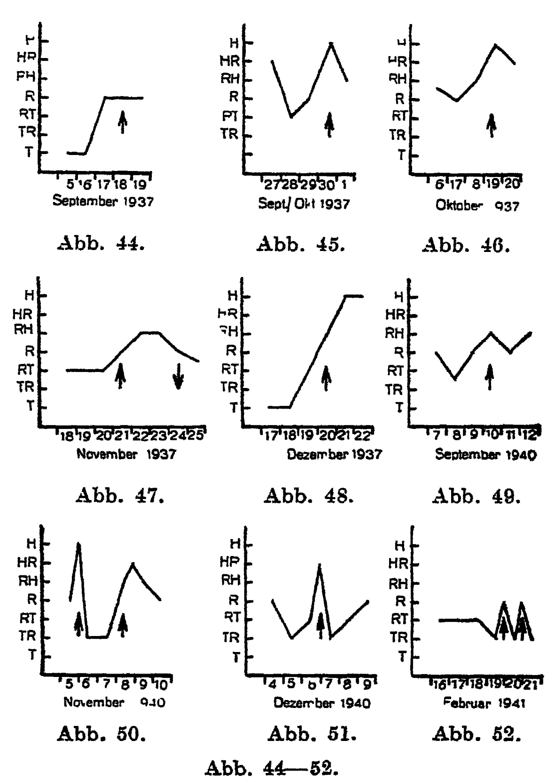


Abb. 44. Abb. 45. Abb. 46. Abb. 47. Abb. 48. Abb. 49. Abb. 50. Abb. 51. Abb. 52.

Abb. 44—52. Erkältungskrankheiten und Wetterverlauf in Berlin.

Daß die epidemischen Erkältungskrankheiten vornehmlich in den Wintermonaten auftreten, stellt sie nur mit anderen epidemischen Krankheiten auf eine Stufe und hat seinen Grund offensichtlich darin, daß, abgesehen von anderen Einflüssen wie Licht- und Vitaminmangel, starke Tiefdruckgebiete mit mehr oder weniger plötzlichen Hochdruckstößen besonders in dieser

Jahreszeit auftreten, beginnend etwa Ende August. Das wird an weiteren Beispielen aus der Literatur noch klarer werden.

Epidemische Influenza.

Zur Überprüfung der aus den Speichelversuchen abgeleiteten epidemiologischen Gesetzmäßigkeiten an Hand von Literaturangaben scheinen die Untersuchungen anderer Autoren über die Influenza oder Grippe, nach Wolter (66) die ausgeprägteste Form des epidemischen Erkrankens, am geeignetsten. Schon Richter (54) hat 1920 die enge Beziehung zwischen dem Auftreten und der Wanderung von Zyklonen und Antizyklonen einerseits und dem Auftreten und der Wanderung der großen Grippe-Pandemien andererseits feststellen können. Er wies nach, daß die Pandemien zeitlich und örtlich zusammenfallen mit Hochdruck und die gesunden Zwischenzeiten mit Tiefdruckwetter. Schon damals hat er ferner behauptet und bewiesen:

1. Das erste Auftreten und die weitere Ausbreitung der Krankheit stehen in unmittelbarer geographischer Beziehung zum Erscheinen und der weiteren Entwicklung der Antizyklone. Der aufeinanderfolgende Befall großer Gebiete der Kontinente entspricht den auftretenden Zentren großer antizyklonaler Bildungen.
2. Die pandemische Influenza breitet sich in derselben Richtung und mit derselben Geschwindigkeit aus wie der Hochdruck von seinem Zentrum über den Kontinent.
3. Das vorpandemische Wetter soll für längere Zeit frei sein von zyklonaler Tätigkeit. Richter sah darin einen Vorläufer der kommenden atmosphärischen Lawine in der Pandemie.
4. Anstiege in der Influenza-Morbidität vor einer großen Pandemie entsprechen einer gleichzeitigen Verstärkung antizyklonalen Wetters.
5. So wie die Periode sehr hohen Druckes von 1830—1840 synchron verlief mit der größten Pandemie des vorigen Jahrhunderts, so wurden die Pandemien von 1890 und 1918 durch ständig steigenden Druck seit 1878 angekündigt, der seinen höchsten Gipfel während der Pandemie 1918 erreichte.
6. So wie das Hoch entsprechend seiner Ausbreitungsgeschwindigkeit fast gleichzeitig überall krankmachend wirksam ist, so drückt auch die folgende Zyklonentätigkeit allen Orten fast am selben Tage den Stempel des Erlöschens der Seuche auf.

Da Richter die Beziehungen des Wetters zum Verhalten der Mikroorganismen wie zur Abwehrkraft des menschlichen Speichels und anderer Sekrete noch nicht kannte, konnte er sich den wettergebundenen Verlauf der Grippe-Pandemien und -Epidemien nicht anders erklären als mit dem Erscheinen und Verschwinden einer gasförmigen Ursache (Ozon) in der Atmosphäre. Es kann aber schon jetzt gesagt werden, daß eine derartige Ursache nicht in Frage kommt, wenngleich das Agens nach wie vor unbekannt ist.

Im einzelnen kann auf die Pandemien, besonders auf die von 1918, nicht eingegangen werden, weil hierüber zu wenig Unterlagen vorliegen. Nur so viel sei gesagt, daß Hochdruck allein niemals Epidemien auslösen kann. Es muß ein die menschliche Widerstandskraft verminderndes Tief vorausgegangen sein. Richter sagt zwar, daß sich das vorpandemische Wetter durch Mangel an Zyklonen auszeichne. Jedoch bezieht sich das auf größere Zeiträume, etwa mehrere Jahre vor Ausbruch der Pandemie. Unmittelbar vor diesem Ereignis werden sich dann aber wohl die Tiefdruckgebiete eingestellt haben. Vielleicht ist die voraufgegangene atmosphärische Ruheperiode insofern mit schuldig am Ausbruch einer so verheerenden pandemischen Grippe, als folgerichtig in dieser Zeit die allgemeine Durchseuchung und Immunisierung der Menschen mangelhaft sein oder vollkommen unterbleiben muß.

Im Gegensatz zur unzureichenden Beschreibung der schon weiter zurückliegenden und glücklicherweise nur selten ausbrechenden Pandemien bieten

die in den letzten Jahren erschienenen ausgiebigen bioklimatischen Bearbeitungen kleinerer Grippe-Epidemien eine Fülle von Möglichkeiten, die Richtigkeit der hier vertretenen Anschauung unter Beweis zu stellen. Meißner (38) beschreibt z. B. den west-östlichen Zug der Grippe-Epidemie vom 29. 1. bis 18. 2. 1939 durch Deutschland mit dem Höhepunkt am 10. 2. Sie sei im Westen stärker aufgetreten als im Osten. Vergleicht man damit die Wetterkarten, so ergibt sich die in Abb. 53 dargestellte Wetterkurve. In ihr sind die Gebiete des Reiches in Himmelsrichtungen angegeben (Z = Mitteldeutschland oder Gesamtreich), die von den jeweiligen Luftdruckgebilden besonders betroffen waren. Es ist der Westen Deutschlands, in dem sich der

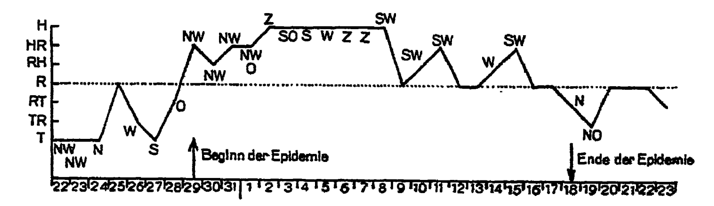


Abb. 53. Grippe und Wetterverlauf im Deutschen Reich Januar—Februar 1939.

Wechsel von Tief- zu Hochdruckwetter in erster Linie abspielte. Hier mußte demnach auch die Grippe besonders heftig wüten. Zeitlich fällt der Beginn der Seuche genau auf den Tag, an dem die Wetterkurve die mittlere Linie R übersteigt, und sie erlischt wieder mit dem Tage, an dem die Kurve diese Linie unterschreitet, d. h. Deutschland wieder in den Bereich von Depressionen kommt.

In gleicher Weise lassen sich die aus Abbildungen einigermaßen sicher entnehmbaren Daten von Stuart-Harris und Mitarbeitern (58) über den Verlauf von örtlichen Grippe- und Erkältungswellen in militärischen Unterkünften der Londoner Gegend zum Wetterverlauf in Beziehung setzen. Das ist in Abb. 54 und 55 geschehen. Man sieht auch hier wieder, daß die Epidemien mit dem Wechsel von Tief zu Hoch einsetzen und mit dem um-

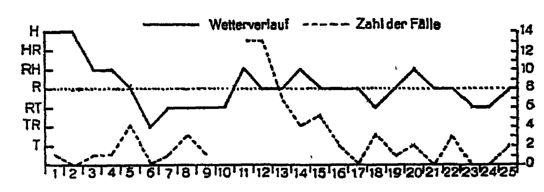


Abb. 54. Pharyngitis und „Influenza" der R. A. F. in Eastchurch (nach Stuart-Harris und Mitarb.) und Wetterverlauf Mai 1936.

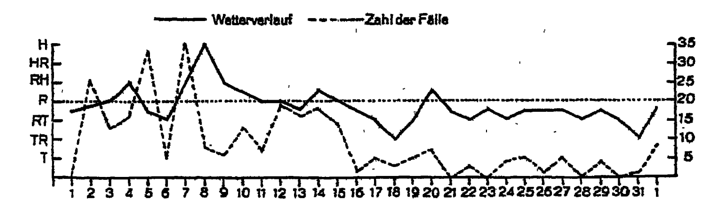


Abb. 55. Epidemische Influenza in Chatham (nach Stuart-Harris und Mitarb.) und Wetterverlauf Januar 1937.

gekehrten Wechsel wieder abklingen. Bei beiden Epidemien liegen die Gipfel der Erkrankungszahlen etwa dort, wo London ziemlich plötzlich aus dem Bereich eines Tiefs in den eines Hochs kommt. Spätere, etwas flachere Anstiege der Wetterkurve sind dagegen nicht von einem so deutlichen Hinaufschnellen der Erkrankungsziffern begleitet.

Vielleicht liegt das gar nicht einmal an den Wetterverhältnissen, sondern einfach daran, daß sämtliche empfänglichen Personen bereits erkrankt sind. Zu dieser Auffassung neigen auch Eckardt, Flohn und Jusatz (18) sowie Jäschock (28). Jedoch ist andererseits zu bedenken, daß das epidemieauslösende Hoch die Abwehrkraft des Menschen erhöht, wie die Speichelversuche lehren, und daß bei fast allen Grippe-Epidemien nach ihrem Ausklang keine schroffen Wetterstöße von Tief zu Hoch mehr beobachtet werden können. Das zeigt die Epidemie in Chatham (Abb. 55) besonders deutlich. Der anfangs sehr unruhige Verlauf der Wetterkurve mit Hochdruckstößen, der dann zu einem ruhigen und tiefer liegenden Verlauf abebbt, ist von einer ganz entsprechenden Epidemiekurve begleitet.

Es hätte keinen Zweck, noch mehr solcher Beispiele anzuführen, obgleich das leicht möglich wäre. Auch ist die Feststellung, daß der Seuchengang zum Wetterwechsel in Beziehung steht, an sich nicht mehr neu. Von medizinisch-meteorologischer Seite ist in dem Bestreben, damit dem wirksamen Agens näherzukommen, versucht worden, wohl definierte charakteristische Einzelerscheinungen des Wetterwechsels wie den Luftmassenwechsel und den damit verbundenen Durchgang von Fronten in die klimatisch-epidemiologischen Vergleiche einzusetzen. Aber die Stimmen mehren sich bereits, die erkennen, daß damit nicht viel gewonnen ist. Je mehr versucht wird, Grippe-Epidemien in ihren Teilerscheinungen mit solchen Wetterelementen zu koordinieren, um so verwirrender wird das Gesamtbild. Dessen kann sich auch De Rudder (9) in einem allgemeinen Überblick über den Stand der Forschung nicht verschließen. Einmal sind es die Kaltfronten, ein andermal die Warmfronten, manchmal warme und manchmal kalte Luftkörper und meistens, aber nicht immer, antizyklonale Wetterlagen, welche biotrop erscheinen und Epidemien auslösen. Anstatt der Gesamterscheinung „Wetter“ sind Teilerscheinungen derselben in die bestehende Beziehung zwischen meteorologischem und biologischem Geschehen eingesetzt worden, ohne daß damit die Beziehung deutlicher geworden wäre. Denn diese Teilerscheinungen enthalten nicht das wirksame Agens, das „weitere Forschung erst ermitteln“ muß (De Rudder, 9). Es ist darum auch nicht möglich, mit ihrer Hilfe zu einer befriedigenden Erklärung einzelner Grippeschübe, ihrer Stärke, Wanderungsgeschwindigkeit und -richtung zu gelangen. Allerdings ist es auch nicht richtig, aus dieser Unmöglichkeit zu schließen, die Grippe könne „durch jede Art von Witterungseinfluß zum Ausbruch kommen“, und die Ausbreitung einer Epidemie erfolge, „sobald der Volkskörper genügend disponiert ist, ausschließlich auf dem Wege der Kontaktinfektion“ (Bauer, 2).

Daß sich solche Fragen mit Hilfe der dynamischen Betrachtungsweise, wie sie aus den Ergebnissen der Speichelversuche entstanden ist, sehr wohl beantworten lassen, soll an den von Medizinern und Meteorologen geomedizinisch bearbeiteten Grippe-Epidemien von 1928/29, 1932/33 und 1936/37 gezeigt werden.

In seiner Untersuchung über die Grippe von 1928/29 kommt Flohn (23) zu den Feststellungen, daß sich die Seuche unabhängig von der Verschiebung

der Luftmassen ausbreitet. Die Ursache sei unbekannt. Die einzelnen Schübe würden durch v e r s c h i e d e n e Wetterlagen ausgelöst, besonders aber durch freien Föhn oberhalb antizyklonaler Inversionen. Die Zuordnung der einzelnen Schübe zu den verschiedenen Wetterfronten könne nicht immer ohne Willkür geschehen. F l o h n kann zwischen solchen Teilstößen der Epidemie und den Luftkörpern bzw. Fronten keine ganz einheitliche Beziehung aufstellen, was jedoch beim Vergleich mit etwa auftretenden Tief-Hoch-Stößen ohne weiteres möglich ist (Tab. 1).

Tabelle 1. Gegenüberstellung von Grippeschüben der Epidemie 1928/29 und Luftkörpern oder Fronten (nach F l o h n) bzw. Tief-Hoch-Stößen.

Schübe	Luftkörper oder Fronten	Tief-Hoch-Stöße
18.—19. 12.	Kaltfront (PC) 17.—18. 12.	18.—19. 12.
21.—22. 12.	Freier Föhn	21.—22. 12. (Hoch von O nach W)
4. 1.	Aufgleiten von TM (Warmfront) 2.—3. 1.	4.—5. 1.
9.—10. 1.	Freier Föhn 8.—9. 1.	7.—8. u. 10.-11. 1.
15.—16. 1.	Kaltfront (PC) 13.—14. 1.	16.—17. 1.
22.—23. 1.	P oder PC, freier Föhn 20.—21. 1.	19.—20. 1.
31. 1.—2. 2.	Freier Föhn (PC) 30. 1.—1. 2.	29.—31. 1.
5.—7. 2.	Freier Föhn 3.—5. 2.	5.—7. 2.
12.—13. 2.	PC (Kaltfront) 10.—11. 2.	10.—11. 2.
15.—16. 2.	Aufgleiten von T (nur im W) 14.—15. 2.	14.—15. 2.
18.—19. 2.	Aufgleiten von TM, z. T. freier Föhn 16.—19. 2.	19.—20. 2.
21.—22. 2.	PC (Kaltfront) 19.—20. 2.	19.—20. 2.
25.—27. 2.	Warmfront, später Kaltfront (C) 24. 2.	24. u. 26.—27. 2.
6.—8. 3.	Kaltfront (PM) 5.—6. 3.	6.—7. u. 9.—10. 3.
12.—13. 3.	Freier Föhn 11.—12. 3.	11.—12. 3.

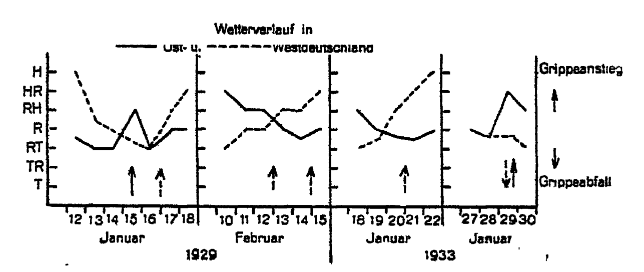


Abb. 56. Grippe und Wetterverlauf in Ost- und Westdeutschland.

Besonders typisch ist F l o h n s vergleichende Betrachtung über den 28. 1. 1933 und den 14. 2. 1929. Am 28. 1. 1933 folgt auf Warmluftzufuhr in Westdeutschland ein auf dieses Gebiet beschränkt bleibender Rückgang der Grippeerkrankungen. Auf den 14. 2. 1929, an dem ebenfalls nur in Westdeutschland subtropische Warmluft auf Kaltluft aufgleitet, folgt aber ganz im Gegensatz zu 1933 am 15. und 16. eine Zunahme der Erkrankungen, die auch auf Westdeutschland beschränkt bleibt.

Dieser mit der Frontentheorie nicht zu deutende Gegensatz zwischen 1929 und 1933 wird sofort zur Selbstverständlichkeit, wenn der Wechsel zwischen Zyklone und Antizyklone als maßgeblicher Faktor für das Kommen und Gehen einer Seuche anerkannt wird. Das zeigt Abb. 56. F l o h n

selbst vermutet deshalb, wie bereits erwähnt, durch Witterungseinflüsse erhöhte Virulenz der Erreger in Verbindung mit Schäden der Resistenz. In den Ergebnissen der Speichelversuche findet diese Vermutung eine Bestätigung, die durch eine Reihe von Ermittlungen über den Verlauf der Epidemien von 1932/33 und 1936/37 noch weiter gestützt wird.

Eckardt, Flohn und Jusatz (18), welche die Epidemie von 1933 geomedizinisch bearbeitet haben, kommen zu der Feststellung, daß diese unabhängig von der Wanderung der Luftkörper, ja manchmal sogar diesen entgegen, von NW- nach S- und O-Deutschland gewandert ist. Zuerst drang die Seuche sehr schnell von Nordwesten nach Deutschland ein, zog dann immer langsamer und verlor allmählich an Heftigkeit, um schließlich schon stark geschwächt auch nach SO-Deutschland zu gelangen.

Die Verfasser sehen sich auf Grund ihrer Erhebungen dazu veranlaßt, als bestimmende Ursache für den Weg der Seuche nicht meteorologische Momente (Luftmassenwechsel, Fronten), sondern etwas noch gänzlich Unbekanntes anzunehmen.

Wie aber ist die Bewegung der Hoch- und Tiefdruckgebiete in dieser Zeit? Vom 16.—19. 1. liegt über dem Kanal und der Nordsee ein Tief, nicht aber über SO-Deutschland. Darauf folgt am 20. 1. von Norden her ein Hoch-Einbruch, von dem nur der Westen des Reiches rasch erfaßt wird, während der Südosten im Randgebiet eines südlichen bis südöstlichen Tiefs verbleibt. Vom 22.—26. dringt das Hoch dann langsam weiter nach Südosten vor, wobei es schwächer wird. Dieser gleiche Gang von Seuche und Antizyklone bestätigt die von Richter (54) genannte Erfahrungstatsache. Aber das Wesentliche ist nicht das Hoch allein, sondern der Gegensatz zwischen Tief und Hoch, der zuerst und am schroffsten im Nordwesten und Norden zu beobachten ist, wo sich auch zuerst die Grippe entsprechend schnell und heftig ausbreitet. Erst später und wesentlich schwächer treten die atmosphärischen Gegensätze wie die Grippe auch im Südosten auf.

Diesem ersten Grippezug von 1933 folgen noch einige weitere, die sich ebensogut in den allgemeinen Rahmen einfügen lassen. Für Marburg und Kurhessen werden einzelne Schübe an folgenden Tagen beobachtet:

23. und 24. 1.: Einbruch des vorerwähnten nördlichen Hochs.
30. „ 31. 1.: Ein Tief zieht am 30. schnell nach Osten ab. Der Hoch-Vorstoß vom Südosten am 29. 1. bleibt meteorologisch wie epidemiologisch auf Südosten beschränkt.
3. 2.: Nach einem Tief folgt ein Hoch von Südwesten.
6. 2. (trotz Erwärmung!): Ein schmales Hoch zieht von Frankreich ostwärts.
13.—15. 2.: Erneuter Hoch-Vorstoß von Nordwesten am 13. 2.

Danach folgen nur noch geringe Zunahmen der Erkrankungsziffern am 20., 21. und 22. 2. sowie in der Zeit vom 26.—28. 2. Entsprechend ist für den 20. das Vordringen eines Hochs von England aus und am 25. von Norden her zu verzeichnen. Dann ist die Epidemie erloschen. In den Zwischenzeiten, in denen die Erkrankungsziffern jeweils abgesunken oder wenigstens nicht gestiegen sind, liegt das Untersuchungsgebiet kein einziges Mal im Bereich eines Hochs, sondern mehr oder weniger im Wirkungsbereich von Depressionen.

Das sich verschiedentlich über mehrere Tage hinziehende Anschwellen der Epidemie trotz rasch erfolgenden und nur kurzfristigen Hoch-Vorstoßes erinnert an die gelegentlich der Speichelversuche beschriebene, verschieden schnell erfolgende Reaktion einzelner Menschen auf eine Wetteränderung. So kann sich der Ausbruch einer Seuche über mehrere Tage ausdehnen und Übertragung von Mensch zu Mensch vorgetäuscht werden.

In Schlesien klingt diese Epidemie nach der Bearbeitung von Jä-

schock (28) erst zwischen dem 16. und 17. 3. ab. Zur selben Zeit verflacht hier das Hoch und wird am 18. 3. vom Randgebiet eines Tiefs abgelöst. Auch im übrigen decken sich hier die einzelnen Schübe mit Hoch-Vorstößen nach Tief-Einwirkung. Besonders hervorgehoben sei nochmals das Vordringen des Hochs von Norden nach W-Deutschland am 20. 1., wodurch nach ganz Deutschland Kaltluft verfrachtet wird, aber dennoch Schlesien im Gegensatz zu W-Deutschland von der Grippewelle verschont bleibt, weil hier keine „epidemische Situation“ in Gestalt eines Tiefs vorgelegen hat und auch das Hoch nicht gleich so weit vordringt. Genau das gleiche Bild in Ursache und Wirkung, nur in örtlicher Umkehrung, bietet der Grippeanstieg am 29. 1. bei einem Hoch-Vorstoß aus südöstlicher Richtung in O-Deutschland, weil sich nur hier und nicht in W-Deutschland die atmosphärische Umwälzung vollzieht (Abb. 56). Im allgemeinen ist der Verlauf der Epidemie im Osten milder als im Westen. Dementsprechend sind auch die Gegensätze zwischen Tief und Hoch hier schroffer als dort.

Als stärker und einheitlicher im Verlauf beschreibt Jäschock (28) dann die Grippeepidemie von 1936/37, die abermals in Schlesien später, nämlich erst um die Jahreswende, einsetzt als im übrigen Reichsgebiet. Wieder wird versucht, für die einzelnen Schübe Luftmassenwechsel von warm zu kalt wie auch von kalt zu warm und ebenso die zugehörigen Fronten verantwortlich zu machen, die aber nicht in allen Fällen „pathogene Wirkung“ haben. Dagegen zeichnet sich das Bild des Epidemieverlaufs auf dem meteorologischen Hintergrund des Luftdruckkörper-Wechsels ganz klar ab. Mit einem steilen Anstieg der Wetterkurve aus dem Randgebiet eines Tiefs am 18. 12. 1936 bis mitten in ein kräftiges Hoch am 20. 12. hält die Seuche ihren Einzug. Sie verschwindet wieder, nachdem sie mit einem Hoch am 9. und 10. 1. 1937 und ganz leicht auch mit dem äußeren Rand eines Hochs am 13. und 14. 1. nochmals aufgeflackert ist. Am 9. 2. 1937 ist nach Jäschock „trotz“ plötzlichen Warmlufteinbruchs keine Krankmeldung mehr erfolgt. Auf Grund der hier vertretenen Theorie konnte das aber auch gar nicht geschehen. Denn Warmfronten und Warmlufteinbrüche haben, sofern sie die Annäherung einer Zyklone bedeuten, seuchenmildernde, also genau entgegengesetzte Wirkung wie Kaltfronten und Kaltlufteinbrüche mit dem Vordringen eines Hochs. Tatsächlich brachte der 9. 2. nicht nur Warmluft, sondern nach einem Hoch am 7. auch ein mehrere Tage anhaltendes Tief mit sich.

Ausführlich wird diese Epidemie von Bauer (2) geschildert und ihr Verlauf in verschiedenen Städten Deutschlands in mehreren Kurvenbildern dargestellt. Bauer vermag keine durchgehend gültige Beziehung zwischen Grippeverlauf und meteorologischen Elementen wie Fronten und Luftmassenwechsel aufzudecken und stellt bezüglich des Luftdrucks nur fest, daß dieser während der Epidemie „hoch und tief“ sein kann. Dennoch ist schon an seinen Abbildungen in den meisten Fällen ein Parallelverlauf zwischen Barometergang und Epidemie zu erkennen. Das heißt, steigende Barometerkurve nach Tiefstand gleich steigende Epidemiekurve und fallende Barometerkurve nach Hochstand gleich fallende Epidemiekurve.

So wie es gelingt, einzelne Wellenberge einer Grippeepidemie auf den Wechsel von Tief zu Hoch und Wellentäler auf den Wechsel von Hoch zu Tief zurückzuführen, so lassen sich auch die verschiedenen epidemiologischen Bilder einzelner Jahre mit einer Verschiedenheit in Zahl und zeitlicher Verteilung solcher Luftdruckkörper-Wechsel erklären. Nach den von Pohlen (45) ermittelten und in Tab. 2 wiedergegebenen Grippe-Todesfällen von

1935 und 1936 kann bis Ende des Jahres 1935 von einer Epidemie noch nicht die Rede sein. Dem einzigen plötzlichen Anstieg in der Zahl der Todesfälle in der Woche vom 29. 10. bis 4. 11. steht auch nur ein einziger Hoch-Stoß am 22. 10. gegenüber. Dagegen nehmen die Todesfälle 1936 sehr viel schneller zu, um gegen Ende des Jahres schon beunruhigende Werte zu erreichen. Auf diesen Zeitabschnitt fällt denn auch nicht nur ein Hoch-Stoß, sondern eine größere Zahl, nämlich drei im Oktober, zwei im November und drei im Dezember. So kommt es, daß die Epidemie 1936/37 nahezu 3 Monate früher ausbricht als gewöhnlich (Bauer, 2). Die aufgestellte Beziehung geht also auch hieraus deutlich hervor.

Tabelle 2. Die Grippesterblichkeit in deutschen Großstädten 1935 und 1936 (nach Pohlen) im Vergleich mit dem Auftreten von Hochdruck-Stößen nach Tiefdruck-Einwirkung.

Woche	Hoch nach Tief für 1935 am	Todesfälle auf 10 000 000 Einwohner		Hoch nach Tief für 1936 am
		1935	1936	
15.—21. 10.		7,9	9,8	21. 10.
22.—28. 10.	22. 10.	8,9	13,2	23. 10.
29.—4. 11.		17,9	14,7	29. 10.
5.—11. 11.		13,9	19,6	
12.—18. 11.		17,5	27,8	15. 11.
19.—25. 11.		15,9	55,6	20. 11.
26. 11.—2. 12.		15,4	67,3	
3.—9. 12.		20,4	73,8	5. 12.
10.—16. 12.		24,3	236,0	9. 12.
17.—23. 12.		24,8	261,0	20. 12.
24.—30. 12.		26,3	?	

Eine geographisch-geologische Eigentümlichkeit der Grippe kann allerdings nicht ohne weiteres mit diesen meteorologischen Faktoren in Zusammenhang gebracht werden. Das ist die besonders gefährliche, epidemieverstärkende Inversionslage in Talkesseln, worauf immer wieder hingewiesen wird, so auch von Jäschock. Vielleicht wird es möglich sein, den Grund hierfür aufzudecken, wenn es erst einmal gelungen ist, das Geheimnis zu lüften, das immer noch über dem wirksamen Agens der biologischen Wetterwirkung ruht.

Pneumonie.

Die allgemeingültige Gesetzmäßigkeit im Wirken dieses Agens macht es selbstverständlich, daß auch andere sog. Infektionskrankheiten den geschilderten meteorotropen Charakter zeigen. Wiele und Ibeling (62) berichten z. B., daß sie die niedrigsten Zahlen der an akuter Pneumonie Erkrankten bei Regen- oder Schneewetter (Zyklonen) fanden und die höchsten bei Okklusionen und Kaltfrontdurchzügen (Hoch nach Tief).

Diphtherie.

Ebenso ist am Verlauf von Diphtherie-Epidemien und -Endemien die Beziehung zum Wetterverlauf ohne Schwierigkeit zu erkennen. Dafür möge ein Beispiel genügen, die Endemie von 1931 in den Alsterdorfer Anstalten, die von Küster (33) mit einem Kurvenbild von Kreyenberg er-

wähnt wird. Schon in dieser Darstellung fällt sofort ein gewisser Gleichlauf der Endemiekurve mit der Luftdruckkurve auf. Ebenso scheinen die eingetragenen Niederschlagsmengen mit der Endemie in Zusammenhang zu stehen. Schließlich sind aber diese meteorologischen Elemente, deren epidemiologische Bedeutung Wolter (63, 64, 66) immer unterstrichen hat, lediglich Ausdrucksformen der vorüberziehenden Zyklonen und Antizyklonen. Ihr Kommen und Gehen wurde in Abb. 57 zusammen mit der Endemiekurve dargestellt. Weitere Erläuterungen dazu dürften sich erübrigen. Nur das Abklingen der Endemie etwa am 25. 9. trotz weiterer Hochdruck-Gipfel widerspricht der geschilderten gesetzmäßigen Beziehung, es sei denn, daß zu diesem Zeitpunkt bereits die größtmögliche Durchseuchung erreicht war und vielleicht auch die Abwehrkraft der noch nicht erkrankten Personen infolge der voraufgegangenen Hochdruckgebiete sich verstärkt hatte.

Dieser klimagebundene Charakter der Diphtherie scheint auch aus den Zahlen zu sprechen, die Pohlen (46) über die Zunahme der Diphtherieerkrankungen im Deutschen Reich von 1925—1935 mitgeteilt hat. In dieser Zeit nimmt die Zyklonentätigkeit sowie der schroffe Wechsel zwischen Tief und Hoch ebenfalls zu.

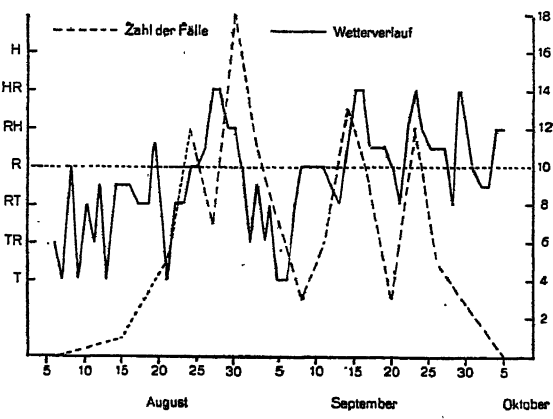


Abb. 57. Diphtherieendemie in Alsterdorf (nach Kreyenberg) und Wetterverlauf 1931.

Scharlach.

Beim Scharlach liegen die Verhältnisse insofern verwickelter, als hier die Inkubationszeit ziemlich lang sein kann, nach Reiter und Möllers (53) 2—7 Tage. Dennoch geht aus epidemiologischen Untersuchungen hervor, daß auch diese Krankheit vom Wetter beeinflußt wird.

Petersen und Mayne (42) haben z. B. ermittelt, daß die Zahl der Neuerkrankungen nach Hochdruck-Wetterlagen ansteigt, während sie bei Tiefdruck-Wetter fällt. Für das Deutsche Reich hat Pohlen (47) auf Grund der polizeilichen Meldungen einen ausgeprägten Gipfel dieser Seuche in der Woche vom 21.—28. 1. 1935 festgestellt.

Vergleicht man damit den Wetterverlauf, so findet man, daß Deutschland vom 4.—6. 1. im Bereich eines ausgedehnten Tiefs lag, auf das ziemlich schnell ein vom 8.—11. anhaltendes kräftiges Hoch folgte. Unter Umständen könnte die spätere Massenerkrankung bereits hierdurch ausgelöst sein, noch wahrscheinlicher aber durch die folgenden Hoch-Stöße am 15. und 18. 1.

Auf eine zeitlich-örtliche Verschiedenheit der Diphtherie-, Scharlach- und Masern-Morbidität in Deutschland und Lettland für die Jahre 1933—1936 macht Pohlen (47) aufmerksam, indem er mitteilt, „daß in Lettland während des Winters 1934/35 eine starke Häufung der Erkrankungsfälle an Diphtherie, Scharlach und Masern bestanden hat. . . . Man sieht, daß sich die Häufung der Erkrankungsfälle ausschließlich in dem einen epidemiologischen Jahr, August 1934 bis August 1935, abgespielt hat; vorher und nachher waren die Erkrankungszahlen normal . . . Das ist darum besonders bemerkenswert, weil in Deutschland der Anstieg der Erkrankungshäufigkeit an Diph-

therie und Scharlach im Jahre 1933 begann, sich in den folgenden Jahren 1934 und 1935 fortsetzte, und weil die Morbidität im gegenwärtigen Jahre 1936 immer noch weiter zunimmt. Diese Überhöhung der Erkrankungsfälle hat in Lettland nur ein einziges epidemiologisches Jahr gedauert, in dieser Zeit aber ein verhältnismäßig starkes Ausmaß gehabt."

In guter Übereinstimmung damit steht die etwaige Zahl der Tage mit schrofferen Wetterwechseln von Tief nach Hoch, nämlich

	in Deutschland	in Lettland
1933	13	3
1934	16	13
1935	18	13
1936	12	4

Poliomyelitis.

Besonders deutlich ausgeprägt ist die alljährlich wiederkehrende Epidemiewelle der Poliomyelitis oder spinalen Kinderlähmung. Sie soll deshalb unter Zugrundelegung der Untersuchungen von Pohlen aus dem Reichsgesundheitsamt ebenfalls noch Erwähnung finden. Dieser berichtet (48) über die 1934 in Dänemark beobachtete sehr heftige Epidemie, daß sie wie üblich ihr Maximum im September erreicht habe. Dementsprechend sind auch die plötzlichen und steilen Anstiege der Wetterkurve wie folgt verteilt:

im August 1, am 14.,
im September 6, am 3., 11., 22., 24., 26., 28.,
im Oktober 3, am 10., 16., 18.

Daraus sind nun allerdings noch keine genaueren Einzelheiten bezüglich der Wetterwirkung zu entnehmen, wie es bei folgendem Beispiel möglich ist:

Im Mai 1936 treten in der Schweiz zunächst noch vereinzelt, aber doch schon sprunghaft zunehmende Erkrankungsfälle auf, worin Pohlen (49) Vorboten einer vielleicht kommenden Epidemie erblickt. In den ersten 3 Wochen steigt die Zahl der Erkrankten lediglich von 2 auf 7 (Abb. 58),

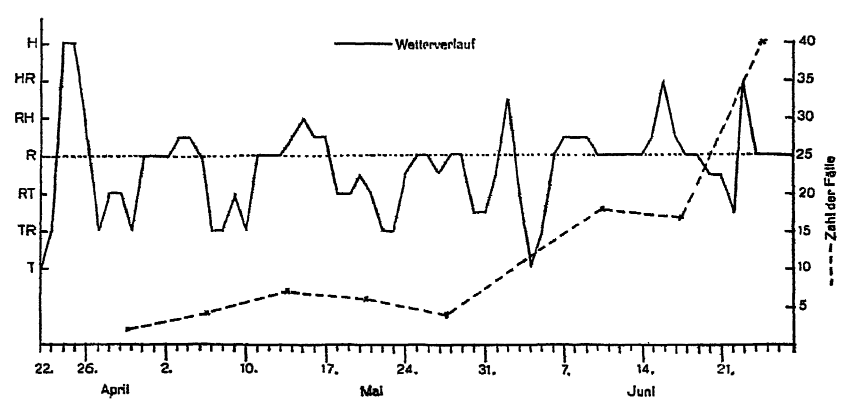


Abb. 58. Poliomyelitis in der Schweiz (nach Pohlen) und Wetterverlauf 1936.

um dann in den beiden nächsten Wochen sogar wieder über 6 auf 4 zurückzusinken. Dem entspricht jeweils nach starker Tiefdruckeinwirkung ein kleiner Hochdruckgipfel in der 2. und 3. Woche, worauf längere Zeit bis an den Anfang der 6. Woche zyklonales Wetter ohne antizyklonale Unterbrechung folgt. In der 6. Woche aber liegt der erste größere Sprung auf 11 Erkran-

kungen, der sich in der 7. Woche auf 18 vergrößert und in der folgenden auf 17 stehen bleibt. Wieder sehen wir in bester Übereinstimmung mit der Theorie einen schroffen Tief-Hoch-Sprung in der 6. und einen nicht ganz so weit ins Hoch hineinführenden zu Beginn der 7. Woche. Dagegen hat der Hochdruckgipfel in der 8. Woche kein Tief als Vorläufer, kann also auch nicht epidemieverstärkend gewirkt haben. Die letzte Woche der Untersuchungszeit bringt dann abermals ein Emporschnellen der Erkrankungskurve, das auch wieder von einem plötzlichen Übergang von Tief nach Hoch begleitet ist.

Sollen diese Beziehungen allgemeinere Gültigkeit besitzen, dann müssen selbstverständlich auch die Unterschiede in Zeit und Stärke des Auftretens von Kinderlähmungs-Epidemien in verschiedenen Jahren in der unterschiedlichen Wetterdynamik dieser Jahre ein Spiegelbild finden. Pohlen (50) bringt z. B. einen Vergleich zwischen den Epidemien von 1934 und 1935 im deutschen Reichsgebiet. Die Gipfel beider Kurven liegen wie immer Ende September bis Anfang Oktober, und auch der Abfall beider Kurven zeigt keine wesentlichen Unterschiede, wohl aber der Anstieg. Er setzt 1935 schon im Juli steil ein und wird Mitte August bereits flacher. 1934 dagegen beginnt der Steilanstieg erst Mitte August, um im September noch steiler dem Gipfel zuzustreben. Demnach wäre zu erwarten, daß 1934 die besonders schroffen Wechsel von Tief zu Hoch erst Mitte August beginnen und im September öfter auftreten. Tatsächlich wurden solche Wetterstöße am 15. 8. sowie am 11., 22., 24. und 26. 9. verzeichnet. Ebenso folgerichtig fallen 1935 die meisten derartigen Stöße auch wieder auf den Steilanstieg der Epidemiekurve, nämlich auf den Juli.

Dieser steile Juli-Anstieg der Poliomyelitis-Welle von 1935 dürfte in erster Linie darauf zurückzuführen sein, daß zu dieser Zeit nicht nur wie gewöhnlich der Norden des Reiches von den starken Depressionen auf ihrer häufigsten Zugstraße berührt wurde, sondern z. T. durch andere Tiefdruckgebiete auch der Südwesten. Wenn nämlich die Epidemie von 1935 für Baden und Württemberg und getrennt davon für das übrige Reichsgebiet in zwei Kurven dargestellt wird, wie Pohlen (51) das getan hat, dann steigen beide bis Mitte August zur gleichen Höhe an, wobei die Kurve für Baden und Württemberg zunächst tiefer ansetzt und sich Ende Juli bis Anfang August zu ihrem höchsten Gipfel erhebt. Ab Mitte August aber sinkt die Seuchenwelle in Württemberg und Baden wieder in sich zusammen, während sie im übrigen Reichsgebiet weiter ansteigt. Nur Anfang Oktober bildet sie nochmals und zugleich mit derjenigen des übrigen Reichsgebiets einen kleinen Gipfel. Diesem Seuchengang im Südwesten des Reiches entspricht die Verteilung der Tief-Hoch-Wechsel in dieser Zeit und in diesem Gebiet. Die stärksten Schübe der Epidemie werden hier durch die Hochdruckstöße am 27. 7. und 4. 8. ausgelöst sein (Tab. 3), während der vom 15. 7. nur verhältnismäßig schwach war und auch nur eine geringe Erhöhung der Erkrankungszahl gebracht hat. Nach dem 15. 8. bleibt der Südwesten des Reiches von schrofferen Hochdruckstößen verschont, nicht dagegen der Norden des Reiches, weshalb hier die Epidemiekurve weiter ansteigt. Nur am 6. 10. wird ganz Süd- und Mitteldeutschland nochmals von einem wirksamen Wetterwechsel in Mitleidenschaft gezogen. Beide Kurven zeigen hier erneut einen Gipfel. Danach erhebt sich nur die Kurve für das Reich außer Baden und Württemberg noch einmal etwas am 21. 10., als sich ausschließlich im Norden des Reiches ein Tief-Hoch-Wechsel vollzieht. Werden beide Kurven addiert, dann ergibt sich für das gesamte Reichsgebiet der Steilanstieg

Tabelle 3. Wirksame Wetterwechsel in verschiedenen Gegenden des Reiches 1935.

Tief-Hoch-Wechsel am	Reichsgebiet in Himmelsrichtung	Tief-Hoch-Wechsel am	Reichsgebiet in Himmelsrichtung
3. 7.	SW	15. 8.	W und SW
7. 7.	N und O	31. 8.	N und NW
15. 7.	SW	7. 9.	W
20. 7.	O	20. 9.	NW
22. 7.	N und O	21. 9.	N
27. 7.	SW	24. 9.	NW
31. 7.	NO	27. 9.	N
4. 8.	SW	6. 10.	SW, S und Mittel
11. 8.	N	21. 10.	N

im Juli und der flachere Weiteranstieg nach dem 15. 8. Also findet nicht nur die zeitliche Verschiedenheit im Verlauf von Poliomyelitis-Epidemien, sondern ebenso die örtliche eine Parallelität im Wettergeschehen.

Natürlich ist der Ausbruch einer Epidemie nicht nur vom Wetter abhängig. Deshalb ist es auch nicht weiter verwunderlich, daß die spinale Kinderlähmung ihren Höhepunkt immer im September erreicht, die Grippe aber meistens erst im Januar/Februar. Aycock (nach Linden, 34) nimmt hinsichtlich der Poliomyelitis an, daß die Widerstandsfähigkeit des Organismus jahreszeitlichen Schwankungen unterliegt im Zusammenhang mit jahreszeitlichen Schwankungen in der Tätigkeit innersekretorischer Drüsen. Immerhin ist auch zu beachten, daß sich die weitaus meisten Epidemien in den Monaten einstellen, in denen ebenfalls die barometrische Unruhe mit den schroffen Tief-Hoch-Stößen in unseren Breiten am größten ist.

Infektionskrankheiten der Pflanzen.

Hier stößt die Untersuchung auf größere Schwierigkeiten, soweit es sich um die Feststellung des Wettereinflusses auf den Wirtsorganismus handelt. Genauere statistische Unterlagen bezüglich Entstehung und Verlauf von Epidemien liegen überhaupt noch nicht vor. Deshalb wurde auch nicht auf diesem Hauptarbeitsgebiet, sondern auf medizinischem die erste Orientierung vorgenommen, die aber darum nicht als Selbstzweck, sondern lediglich als Einleitung zu phytopathologisch-epidemiologischen Untersuchungen aufgefaßt werden darf. Zwar hat Dold (10) Inhibine auch in Kartoffeln und Mohrrüben nachgewiesen, aber Untersuchungen über die Beeinflussung dieser antibakteriellen Stoffe durch den Wetterfaktor konnten noch nicht durchgeführt werden. Dagegen war es schon möglich, einen solchen Einfluß auf die Erreger verschiedener Pflanzenkrankheiten nachzuweisen. Darüber sollen hier an den Beispielen eines pilzlichen und eines bakteriellen Erregers einige vorläufige Mitteilungen gemacht werden, denen später in besonderen Veröffentlichungen ausführliche folgen werden.

Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel. (Phytophthora infestans.)

Die Infektion des Kartoffellaubes erfolgt unter natürlichen Verhältnissen nur durch die Zoosporen der Phytophthora, die im Regen- oder Tauwasser sich fortbewegend und dann mit einem Keimschlauch durch die Cuticula in das Blattgewebe eindringend die eigentlichen Krankheitserreger im

Kartoffelfeld sind. Werden also keine Zoosporen gebildet, dann muß schon deswegen die Krankheit zum Stillstand kommen. Werden aber sehr viel gebildet, dann können sich lokale Befallstellen zur Epidemie ausweiten, wie es z. B. 1917 in Deutschland geschehen ist.

Dabei dürfte es wohl kein Zufall sein, daß diese große Phytophthora-Kalamität zeitlich ungefähr zusammenfiel mit der letzten großen Grippe-Pandemie. Schon hieraus und aus der von Fischer und Gäumann (20) erwähnten Beobachtung, daß allgemein die Konidien von Peronosporaceen bei Föhn kaum halb so stark keimen wie bei „normalem“ Barometerstand,

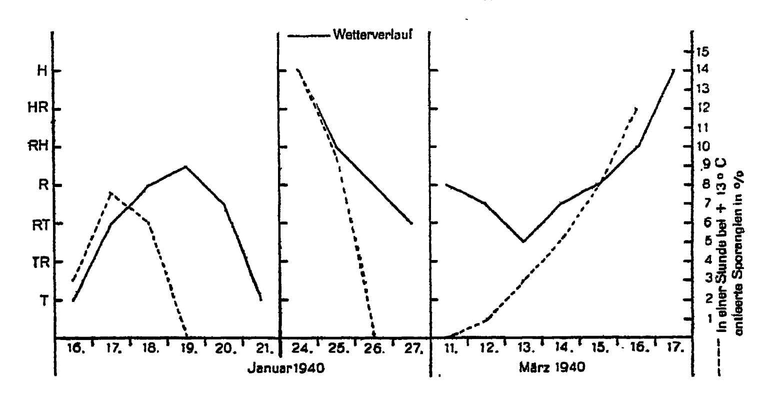


Abb. 59.
Zoosporenbildung von Phytophthora infestans und Wetterverlauf.

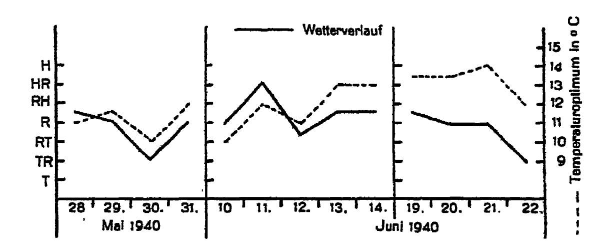


Abb. 60.
Temperaturoptimum der Zoosporenbildung von Phytophthora infestans und Wetterverlauf.

läßt sich entnehmen, daß für die Epidemiologie der Phytophthora-Krautfäule ähnliche Gesetzmäßigkeiten gelten müssen wie für die epidemischen Krankheiten des Menschen und der Tiere.

Tatsächlich wurde auch festgestellt, daß die Zahl der unter üblichen konstanten und annähernd optimalen Bedingungen in einer Stunde entleerten Sporangien des Pilzes in weitestem Umfange vom Wetterverlauf abhängig ist, und zwar, wie Abb. 59 zeigt, wiederum so, daß sie bei kommendem Hochdruckwetter erhöht und bei kommendem Tiefdruckwetter erniedrigt wird.

Darüber hinaus ließ sich zeigen, daß auch das Temperaturoptimum der Zoosporenbildung keinen festliegenden Wert darstellt, sondern ebenfalls parallel den Wetteränderungen verlaufenden Schwankungen unterworfen ist (Abb. 60). Es steigt mit steigender und fällt mit fallender Wetterkurve. Durch den unbekannten Wetterfaktor wird also nicht nur die Intensität der

Zoosporenbildung selbst, sondern außerdem die Temperatur bestimmt, bei welcher am meisten und schnellsten Zoosporen schlüpfen. Deshalb werden z. B. bei einem heraufziehenden Schlechtwettergebiet oftmals noch einige Schlüpfprozente erzielt werden können, wenn die Temperatur tief genug gehalten wird. Diese Abhängigkeit der Wetterwirkung von der Temperatur erschwert natürlich die Analyse der zunächst sehr einfach erscheinenden Beziehung der Zoosporenbildung zum Wetterverlauf.

Für die Epidemiologie der Phytophthora-Fäule läßt sich aber aus den Ergebnissen schon einiges schließen. Mit starker Verseuchung der Felder wird immer dann zu rechnen sein, wenn sich bei ausreichender Feuchtigkeit und optimaler Temperatur nach zyklonalem Wetter eine Hochdruckwetterlage ausbildet.

Wildfeuerkrankheit des Tabaks. (Pseudomonas tabaci.)

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei dieser Krankheit, die dadurch hervorgerufen wird, daß schwärmende Zellen des Bakteriums in die Spaltöffnungen des Tabakblattes eindringen, sich dann im Blattgewebe vermehren

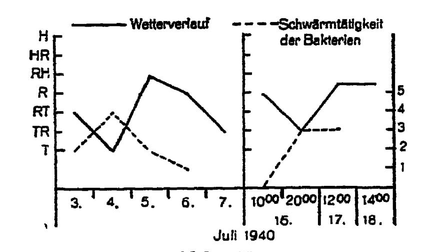


Abb. 61.
Schwärmtätigkeit von Pseudomonas tabaci und Wetterverlauf.

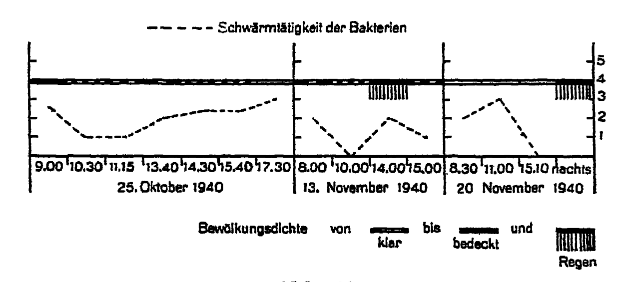


Abb. 62.
Schwärmtätigkeit von Pseudomonas tabaci und Bewölkung bzw. Niederschläge[1]).

und dieses durch Bildung eines Toxins zerstören. Eine von den unerläßlichen Voraussetzungen für Entstehung und Ausbreitung der Krankheit ist also die lebhafte Beweglichkeit der Bakterien, die außerdem ein Zeichen für ihre Vitalität ist.

Deshalb wurden stets in gleicher Weise gezüchtete Kulturen nach 20 bis 27 Std. mehrmals auf ihre Schwärmtätigkeit hin untersucht. Es ergab sich,

[1]) Die Beziehungen sind nach neueren Feststellungen nicht immer so einfach wie in dieser Abbildung.

daß sie eine auf Wettereinflüsse äußerst fein reagierende Eigenschaft der Bakterien ist. Unter Umständen kann sie in wenigen Minuten bis Stunden bei raschem Vordringen eines kräftigen Hochs sehr rege werden und umgekehrt bei entgegengesetztem Wetterverlauf auch völlig zum Stillstand kommen. Geringfügigere Wetteränderungen werden ebenfalls deutlich angezeigt, so daß die bisher angewandte Wetterkarten-Methode oft nicht ausreicht, um das Verhalten der Bakterien zu deuten. Deshalb wurden vorläufig Änderungen in der Bewölkung und auftretende Niederschläge zum Vergleich herangezogen. Ausschnitte aus den über viele Monate ausgedehnten Untersuchungen sind in den Abb. 61 und 62 wiedergegeben, in denen die Schwärmtätigkeit in 5 Stufen bewertet wurde, steigend von 0 = absolute Ruhe der Zellen bis 5 = lebhafteste Bewegung.

Natürlich ist das erst eine der epidemiologisch wichtigen Lebensäußerungen des Bakteriums, die zum Wetter in Beziehung gesetzt werden konnte. Bei anderen wird das noch angestrebt. Jedoch ist nicht anzunehmen, daß sich dabei ein abweichendes Bild ergeben wird.

In ihrer Gesamterscheinung wird diese Krankheit jedenfalls die gleichen Beziehungen zum Wetterverlauf aufweisen wie andere Krankheiten. Denn ein im Jahre 1930 beobachteter ungewöhnlich heftiger Befall des Tabaks auf dem Dahlemer Versuchsfeld, der offenbar auf Grund von Meldungen aus dem Reich als Teil einer Epidemie aufzufassen ist, stellte sich nach einem ganz typischen Wetterwechsel ein. Etwa am 2. 8. wurde die Erkrankung des Tabaks festgestellt. Sie mag aber auch schon ein paar Tage früher aufgetreten sein. Jedenfalls herrschte mindestens seit dem 15. 7. ausgesprochenes Tiefdruckwetter, das am 27. ziemlich jäh von einem Hochdruck-Randgebiet abgelöst wurde. Nach vorübergehendem Zurückweichen des Hochs war es am 1. 8. vollständig ausgeprägt. Man kann also wohl annehmen, daß die Infektion etwa am 26. 7. stattgefunden hat, an dem Tage nämlich, an dem sich der schroffe Wechsel vom Tief zum Hoch vollzog.

So wie diese Wildfeuer-Epidemie am Tabak im August aufgetreten war, so häufen sich überhaupt die infektiösen Erkrankungen der Pflanzen in dieser Jahreszeit (Fischer, 19), die meteorologisch-epidemiologisch nicht nur wegen der hohen Temperatur und Niederschlagsmengen besonders günstig ist, sondern auch, wie z. B. aus dem Verlauf der Poliomyelitis-Epidemien hervorgeht, wegen der zahlreicher und schroffer in Erscheinung tretenden Tief-Hoch-Stöße das sommerliche Gegenstück zu den winterlichen Epidemie-Monaten darstellt.

Schlußbetrachtung und Ausblick.

Aus allen Vergleichen zwischen in der Literatur vorliegenden epidemiologischen Daten sowie eigenen Beobachtungen und dem Wetterverlauf läßt sich jedenfalls schließen, daß das Einsetzen epidemischer Erkrankungen von einem mehr oder weniger plötzlichen Wechsel von zyklonalem zu antizyklonalem Wetter und das Abklingen einer Seuche vom umgekehrten Wetterwechsel begleitet ist. Damit finden die aus den Speicheluntersuchungen abgeleiteten epidemiologischen Gesetzmäßigkeiten im tatsächlichen Verhalten der Epidemien ihre Bestätigung und Wolters Forderung (66) nach einem Ausgleich zwischen „Miasma“ und „Kontagium“, d. h. zwischen den Lehren Pettenkofers und Kochs im wesentlichen ihre Erfüllung.

Eine sehr naheliegende Frage, die sich daraus ergibt. und die auch schon von Jusatz (30) aufgeworfen wurde, ist die, ob es schon jetzt möglich ist, auf Grund der Wetterparallelität im Seuchengeschehen sichere epidemiologische Prognosen zu stellen. Das dürfte aber unter anderem schon deswegen vorerst nicht gut möglich sein, weil langfristige Wettervorhersagen noch zu unsicher sind. Zwar wird nach Düll (17) der Witterungscharakter von der Solaraktivität beeinflußt, deren Periodizität einigermaßen bekannt ist. Tschijewski (nach Jusatz, 30) hat ja auf Grund dieser Perioden die Grippe-Epidemien 1932 und 1936 im Jahre 1927 tatsächlich vorausgesagt. Aber das ist noch kein genügender Beweis für die Treffsicherheit dieses Verfahrens. Auch hier käme man wahrscheinlich besser voran, wenn die eigentliche Ursache des Meteorotropismus der Organismen bekannt wäre. Nach Jusatz (30) findet die ebenso im Wechsel anderer irdischer sowohl als kosmischer Ereignisse erkennbare 11jährige Periode im Sonnenfleckenzyklus vielleicht nicht einmal ihre ursprünglichste und reinste Äußerung.

Aber Beziehungen zwischen Sonnenflecken einerseits und Krankheitszuständen und Sterblichkeit beim Menschen andererseits sind unverkennbar und dürften sich wahrscheinlich auch bei Pflanzenkrankheiten aufzeigen lassen, ganz gleich, ob eine unmittelbare Beeinflussung dieser Geschehnisse auf der Erde durch die Ereignisse auf der Sonne vorliegt oder eine mittelbare. Nach Düll (16) verläuft die Sterblichkeitskurve in Kopenhagen ungefähr parallel mit der Luftdruckkurve. Das ließe sich mit dem, was bisher besprochen wurde, ebensogut in Einklang bringen wie die Feststellung Dülls, daß auf die solaren Einflüsse Selbstmordfälle schneller erfolgen als die auf andere Ursachen zurückgehenden Todesfälle. Denn die primäre meteorologische Ursache aller Krankheiten ist nach den vorliegenden Erfahrungen das Tief, auf das der Mensch seelisch sofort reagiert, während sich die durch Stoffwechsellähmung verursachten Krankheiten oder gar die Infektionskrankheiten erst sehr viel später einstellen, letztere erst mit einem nachfolgenden Hoch. Daraus würde sich dann aber auch ergeben, daß die erste meteorologische Folge gesteigerter Sonnentätigkeit eine gesteigerte Zyklonentätigkeit ist. Da als letzte Ursache, eine Strahlung von Düll angenommen wird, auf die dann die Eruptionen und in 1—4 Tagen die Flecken und Kalziumflocken auf der Sonne und die Krankheits- und Sterblichkeitserhöhung auf der Erde folgen. so wäre diese Strahlung als stoffwechselhemmend und schädlich anzusprechen, sofern sie auch wirklich unmittelbar den Menschen sowie Tiere und Pflanzen beeinflußt. Das aber ist eben bis heute nicht erwiesen. Tschijewski (59) denkt sich die Kette dieser Beziehungen so, daß periodisch von der Sonne ausgehende Korpuskularstrahlen luftelektrische Erscheinungen auslösen, denen zufolge die Bakterien ihre Ladung und damit auch ihre Virulenz ändern. In der künstlichen Zufuhr bestimmter Luftionen sieht er deshalb eine Möglichkeit, dem Menschen besondere Abwehrkräfte zu verleihen. Dagegen läßt sich einwenden, daß bestimmt nicht nur das Bakterium, allgemeiner also der Erreger, sondern auch der Wirtsorganismus von dem unbekannten Agens beeinflußt wird.

Wieweit die Behandlung von Pflanzen mit Luftionen möglich sein würde und wieweit überhaupt die Gedanken Tschijewskis den Tatsachen entsprechen und die etwas kühn anmutenden Schlußfolgerungen für die Praxis durchführbar sind, wird die Zukunft lehren.

Zusammenfassung.

An oft wiederholten, stets gleichmäßig ausgeführten Untersuchungen über die hemmende Wirkung des menschlichen Speichels auf Bact. prodigiosum wurde folgendes festgestellt:

1. Die hemmende Speichelwirkung unterliegt zeitlichen, von der Versuchsperson unabhängigen Schwankungen.
2. Diese zeigen eine auffallende Parallelität mit dem Wechsel von zyklonalem und antizyklonalem Wetter und sind zusammengesetzt aus Schwankungen
   a) der Widerstandsfähigkeit des Bakteriums und
   b) der wirksamen Beschaffenheit des Speichels.
3. Die Zusammensetzung des Speichels ist wirksamer und die Widerstandskraft der Bakterien größer unter dem Einfluß antizyklonalen Wetters und weniger wirksam bzw. geringer unter dem Einfluß zyklonalen Wetters.
4. Dieser Einfluß, der von noch unbekannten Faktoren ausgeht, macht sich bei den Mikroorganismen schon vor Ausbildung der betreffenden Wetterlage bemerkbar, beim Speichel aber erst nach derselben.
5. Durch diese zeitliche Verschiebung ist die Feststellung bedingt, daß die tatsächliche bakterienhemmende Speichelwirkung nach einem Hoch und vor einem Tief besonders stark ist und nach einem Tief und vor einem Hoch besonders schwach.
6. Diese Feststellung, die ein epidemiologisches Grundgesetz darstellt und für das rätselhafte Kommen und Gehen der Seuchen eine Erklärung zu geben vermag, wurde an Hand von Einzeldaten aus der medizinisch-epidemiologischen Literatur und z. T. auch an Hand von eigenen Feststellungen über Erkältungskrankheiten des Menschen sowie über infektiöse Pflanzenkrankheiten nachgeprüft und bestätigt.

Schrifttum.

1. Arnoldi, W., Einfluß des Wetters und der Jahreszeit auf Krankheitszustände. (Med. Welt. Bd. 10. 1936. S. 294.) — 2. Bauer, J., Grippe und Wetter. Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen dem atmosphärischen Geschehen und den Grippeepidemien der letzten 5 Jahre in Deutschland. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. 134. 1938. S. 778—816.) — 3. Bortels, H., Meteorobiologische Untersuchungen an Azotobakter. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 102. 1940. S. 129—153.) — 4. Buza, L. von, Untersuchungen über die Virulenz des Milzbrandbazillus. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 146. 1940. S. 18—24.) — 5. Clauberg, K. W., Über die Inkonstanz des Hämolysinbildungsvermögens von Scharlachstreptokokken. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 114. 1929. S. 372—376.) — 6. De Rudder, B., Wetter und Jahreszeit als Krankheitsfaktoren. Berlin 1931. — 7. Ders., Einfluß des Wetters auf den menschlichen Organismus. (Bioklim. Beibl. Bd. 1. 1934. S. 34.) — 8. Ders., Grundriß einer Meteorobiologie des Menschen. Wetter- und Jahreszeiteneinflüsse. Berlin 1938. — 9. Ders., Allgemeine klinische Methodik bioklimatischer Untersuchungen. (Med.-meteorol. Stat. von F. Linke und B. de Rudder. Berlin 1936. S. 79—96.) — 10. Dold, H., Neue Beobachtungen über antibakterielle Hemmungsstoffe (Inhibine) und antibakterielle Wandlungsstoffe (Mutine). (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. 1937. S. 265—267.) — 11. Dold, H., Du Dscheng Hsing und Dziao, S. T., Nachweis antibakterieller, hitze- und lichtempfindlicher Hemmungsstoffe (Inhibine) im Naturhonig (Blütenhonig). (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 120. 1937. S. 155—167.) — 12. Dold, H. und Feigs, G., Über den Mangel an antibakteriellen Hemmungsstoffen (Inhibine) in den Sekreten geschlossener Körperhöhlen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 122. 1940. S. 692—701.) — 13. Dold, H., Lächele, W. und Du Dscheng Hsing, Über die Eigenschaften, Wirkungsbreite und Wirkungsart der antibakteriellen Hemmungsstoffe (Inhibine) des menschlichen Speichels. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 118. 1936. S. 369—395.) — 14. Dold. H. und Ochsenreither, F., Untersuchungen über die tuberkel-

bazillenfeindliche Wirkung des Speichels im Vergleich zu der des Blutserums. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 123. 1941. S. 51—58.) — 15. Dold, H., Wizemann, E. und Kleinen, C., Über antibakterielle Hemmungsstoffe (Inhibine) und antibakterielle Wandlungsstoffe (Mutine) in der frischen, rohen, unter sterilen Kautelen entnommenen Milch (Kuhmilch und Frauenmilch). (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 115. 1937. S. 525—538.) — 16. Düll, B. und T., Statistik über die Abhängigkeit der Sterblichkeit von geophysikalischen und kosmischen Vorgängen. (Med.-meteorol. Stat. von F. Linke und B. De Rudder. Berlin 1936. S. 197—245.) — 17. Dies., Kosmisch-physikalische Störungen der Ionosphäre, Troposphäre und Biosphäre. (Bioklim. Beibl. Bd. 6. 1939. S. 65—76.) — 18. Eckardt, E., Flohn, H. und Jusatz, H. J., Ausbreitung und Verlauf der Grippeepidemie 1933 in Abhängigkeit von meteorologischen und geographischen Faktoren. Eine geomedizinische Untersuchung. 1. Mitt. Die Grippeepidemie 1933 in Marburg und Kurhessen, verglichen mit dem Witterungsgeschehen. 2. Mitt. Meteoropathologie der Grippeepidemie 1933. 3. Mitt. Das Fortschreiten der Grippeepidemie 1933 im geographischen Raum. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 118. 1936. S. 64—74, 74—84 u. 84—91.) — 19. Fischer, A., Über den Einfluß des jährlichen Witterungsverlaufes auf die Frequenz von Pflanzenkrankheiten. (Phytopath. Ztschr. Bd. 5. 1933. S. 55—74.) — 20. Fischer, E. und Gäumann, E., Biologie der pflanzenbewohnenden, parasitischen Pilze. (Jena 1929.) (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 118. 1936. S. 64—74.) — 21. Flach, E., Die Bedeutung der lokalklimatischen Forschung für die Meteoropathologie der Erkältungskrankheiten. (Bioklim. Beibl. Bd. 5. 1938. S. 22—26.) — 22. Flohn, H., Grundfragen der Meteoropathologie vom meteorologischen Standpunkt. (Bioklim. Beibl. Bd. 5. 1938. S. 4—7.) — 23. Ders., Zur Geomedizin der Grippe (am Beispiel der Epidemie 1928/29). (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 121. 1939. S. 588—603.) — 24. Gruber, M., Max von Pettenkofer. (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 36. 1903. S. 4512—4572.) — 25. Heuer, G., Die Milchsäureaktivierung apathogener Bakterien. (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 56. 1926. S. 553—568.) — 26. Höring, F. O., Studien über Bakterienvariabilität am klinischen Untersuchungsmaterial und die Bedeutung derselben für die allgemeine Pathogenese. (Klin. Wochenschr. Bd. 11. 1932. S. 793—800.) — 27. Holzmann, S. G., Patient und Wetter. (Dissert. München 1936. Ref.: Bioklim. Beibl. Bd. 5. 1938. S. 128—129.) — 28. Jäschock, H., Das epidemische Auftreten der Grippe im Winter 1932/33 und 1936/37 in einigen Bezirken Niederschlesiens und die Abhängigkeit des Verlaufs der Epidemien von meteorischen und geographischen Faktoren. Eine geomedizinische Untersuchung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 121. 1939. S. 276—297.) — 29. Jordan, P., Über die Ursache der Föhnkrankheit. (Naturw. Bd. 28. 1940. S. 630—631.) — 30. Jusatz, H. J., Über das rhythmische Auftreten von Grippeepidemien und die Möglichkeit einer epidemiologischen Prognose. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 121. 1939. S. 185—207.) — 31. Kairies, A., Influenzastudien an Mäusen unter dem Gesichtspunkt von Infektion und Provokation. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 121. 1939. S. 749—770.) — 32. Küster, E., Wetter und Auftreten von Epidemien. (Med.-meteorol. Stat. von L. Linke und B. De Rudder. Berlin 1936. S. 115—140.) — 33. Liese, W., Hauttemperaturmessungen am ruhenden und arbeitenden Menschen unter dem Einfluß schwacher Luftströme. (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 62. 1931. S. 639—657.) — 34. Linden, H., Über den heutigen Stand der Poliomyelitisfrage. (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 65. 1933. S. 149—168.) — 35. Lischka, A., Die Abhängigkeit der Apoplexien von Wetter und Jahreszeiten. (Experim. Med. Bd. 107. 1940. S. 161. Ref.: Bioklim. Beibl. Bd. 7. 1940. S. 153.) — 36. Lotze, H., Studien zur Epidemiologie. 1. Mitt. Die Bedeutung der Variabilitätsstudien für eine Neuorientierung in der epidemiologischen Forschung. 2. Mitt. Das Bact. coli ein fakultativ darmpathogener Mikroorganismus? Beitrag zur Zyklogenese Coli - Paratyphus - Typhus. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 121. 1931. S. 161—169 u. 169—194.) — 37. Martini, E., Wege der Seuchen (Lebensgemeinschaft, Kultur, Boden und Klima als Grundlage von Epidemien), unter Berücksichtigung der Tropenkrankheiten dargestellt. Stuttgart 1936. — 38. Meißner, O., Die Grippeepidemie 1939 und das Wetter. (Bioklim. Beibl. Bd. 7. 1940. S. 42—43.) — 39. Merkel, H., Untersuchungen über Bakterienwachstum hemmende Stoffe (Inhibine) in verschiedenen Darmabschnitten des Kaninchens. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 122. 1940. S. 425—435.) — 40. Mühlenbach, V., Untersuchungen über die Rolle der Speichelkeime im Dold-Weigmannschen Hemmungsphänomen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 121. 1939. S. 569—580.) — 41. Petersen, W. F., The patient and the weather. (Vol. IV, Teil 1 u. 2. Ann. Arbor, Michigan. 1937. Ref.: Bioklim. Beibl. Bd. 7. 1937. S. 181—182.) — 42. Petersen, W. F. und Mayne, A., Scharlach und meteorologische Um-

gebung. (Kongr. Bl. Inn. Med. Ref.: Bioklim. Beibl. Bd. 7. 1940. S. 55.) — 43. Pfeiffer, R., Die Ätiologie der Influenza. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 121. 1931. S. 241—257.) — 44. Philipsborn, E. von, Die Bioklimatologie in der Krankheistlehre von J. L. Schönlein (1793—1864) und C. A. Wunderlich (1815—1878). (Bioklim. Beibl. Bd. 5. 1938. S. 111—114.) — 45. Pohlen, K., Der jahreszeitlich-epidemiologische Stand der Grippesterblichkeit in den deutschen Großstädten am Ende des Jahres 1936. (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 71. 1938. S. 216—218.) — 46. Ders., Die Vollständigkeit in der Erfüllung der sanitätspolizeilichen Anzeigepflicht von Diphtherieerkrankungen im Deutschen Reich. (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 71. 1938. S. 45—52.) — 47. Ders., Die Beobachtung der jahreszeitlich-epidemiologischen Bewegung von Infektionskrankheiten. (Reichsgesundheitsbl. Nr. 27. 1936. S. 521—524.) — 48. Ders., Die Kinderlähmungsepidemie von 1934 in Dänemark. (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 71. 1938. S. 154.) — 49. Ders., Die Anzeichen einer drohenden Kinderlahmungsepidemie in der Schweiz? (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 71. 1938. S. 151—152.) — 50. Ders., Der jahreszeitlich-epidemiologische Stand der Kinderlahmungserkrankungen im Deutschen Reich um die Mitte des Jahres 1936. (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 71. 1938. S. 149—151.) — 51. Ders., Die Bewegung der Kinderlähmungserkrankungen in Württemberg während der Epidemie vom Jahre 1935. (Arb. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 71. 1938. S. 152—154.) — 52. Raettig, H. und Nehls, E., Die Meteorotropie der Lungenembolie. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. 138. 1940. S. 242. Ref.: Bioklim. Beibl. Bd. 7. 1940. S. 151.) — 53. Reiter, H. und Möllers, B., Carl Flügges Grundriß der Hygiene. Berlin 1940. — 54. Richter, C. M., Influenza pandemics depend on certain anticyclonic weather conditions for their development. (Arch. of Intern. Med. Vol. 27. 1920. p. 361—386.) — 55. Schäfer, W., Über die Bakterizidie menschlichen Speichels und insbesondere über seinen Einfluß auf die Natur der Diphtheriebazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 135. 1936. S. 456—468.) — 56. Schmidt, P. und Kairies, A., Über die Entstehung von Erkältungskatarrhen und eine Methode zur Bestimmung der Schleimhauttemperatur. Jena 1932. — 57. Stapp, C. und Bortels, H., Azotobakterwachstum und Stickstoffbindung in Abhängigkeit vom Wetter. Vorl. Mitt. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 497—499.) — 58. Stuart-Harris, C. H., Andrewes, C. H., and Wilson Smith with Chalmers, D. K. M., Cowen, E. G. H., and Hughes, D. L., A study of epidemic influenza with special reference to the 1936-epidemic. (Privy Council. Medical Res. Council. Special Report Series. No. 228. p. 1—151.) — 59. Tschijewsky, A. L., L'activité corpusculaire, electromagnétique et périodique du soleil et l'électricité atmosphérique, comme régulateurs de la distribution, dans la suite des temps, des maladies épidémiques et de la mortalité générale. (Acta Medica Scandinavica. T. 91. 1936. p. 491—522.) — 60. Weigmann, F. und Koehn, A., Weitere Untersuchungen über die Wirkung des menschlichen Speichels auf Diphtheriebazillen. 1. Mitt. Die entwicklungshemmende bis keimtötende Wirkung des Speichels auf die Diphtheriebazillentypen. 2. Mitt. Die Umwandlung der Diphtheriebazillentypen unter der Einwirkung des menschlichen Speichels. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 118. 1936. S. 507—515 u. 516—532.) — 61. Weigmann, F. und Noeske, H., Untersuchungen über den antibakteriell wirksamen Faktor im menschlichen Speichel. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 119. 1937. S. 413—424.) — 62. Wiele, C. und Ibeling, H., Zur Frage der Epidemiologie und Pathogenese der akuten Pneumonie an 1002 Erkrankungsfällen. (Med. Welt. Bd. 14. 1940. S. 500. Ref.: Bioklim. Beibl. Bd. 7. 1940. S. 121.) — 63. Wolter, F., Ergebnisse der Klimaforschung in ihrer Bedeutung für die Epidemiologie. (Bioklim. Beibl. Bd. 1. 1934. S. 88—90.) — 64. Ders., Die Seuchenentstehung in ihrer Abhängigkeit von Boden und Klima. (Forsch. u. Fortschr. Bd. 13. 1937. S. 190—191.) — 65. Ders., Die Seuchenentstehung nach den Ergebnissen der bakteriologischen Forschungsrichtung in der Epidemiologie. (Forsch. u. Fortschr. Bd. 13. 1937. S. 178—179.) — 66. Ders., Vergleichende Epidemiologie im Zeitalter Max von Pettenkofers, Louis Pasteurs und Robert Kochs in seiner Auswirkung auf die Seuchenverhütung und -bekämpfung. (Samml. „Med. Praxis". Dresden u. Leipzig 1940.)

Quantitative Untersuchungen über die Assimilation des elementaren Stickstoffs der Luft durch hautbildende Hefen.

[Aus dem Botanischen Institut der Versuchs- und Forschungsanstalt für Wein- und Gartenbau, Geisenheim a. Rh., Vorstand: Prof. Dr. H. Schanderl.]

Von **Hermann Frei**[1]).

Mit 6 Abbildungen im Text.

A. Einleitung und Literatur.

Die Stickstoffernährung der Hefe ist von einer Reihe von Chemikern und Physiologen eingehend untersucht worden. Ihre Untersuchungen erfolgten jedoch in der Annahme, daß die Hefe den Stickstoff nur in Form seiner chemischen Verbindungen verwerten könnte. Daß der Stickstoff aber auch in seiner elementaren Form, wie er sich in der atmosphärischen Luft vorfindet, von Bedeutung sein könnte, wurde wenig erwogen. Der erste, der auch den Luftstickstoff in Beziehung zum Hefewachstum brachte, war nach Wills Angaben Zikes. Dieser Forscher hatte im Jahre 1909 bei Torula Wiesneri, die er von Lorbeerblättern isolierte und auf N-freier Nährlösung gezüchtet hatte, die Beobachtung gemacht, daß sich diese Hefe, obwohl die Nährlösung keine Stickstoffquelle enthielt, stark vermehrt hatte. Er nahm daher an, daß ihr Wachstum nur durch die Bindung des Luftstickstoffs zustande gekommen wäre. Ein Jahr später (1910) machte Ch. B. Lipman eine Mitteilung über Züchtungsversuche mit 18 verschiedenen Mikroorganismen, darunter Mycoderma vini, eine Torula-Art und verschiedene andere Sproßpilze. Es gelang ihm, wie auch 2 Jahre später, analytisch eine Stickstoffzunahme seiner Kulturen nachzuweisen. In demselben Jahre berichtete P. Lindner über seine Assimilationsversuche mit Blastoderma salmonicolor (Fischer und Brebeck), einer den Hefen nahestehenden Pilzform, der die Fähigkeit zur Assimilation des freien Luftstickstoffs zukommen sollte.

Diesen Beobachtungen folgte 1911 die Arbeit von J. Scheckenbach: „Beiträge zur Kenntnis der Torulaceen in chemisch-physiologischer Hinsicht". Auf Grund der Ergebnisse von 4 Monate dauernden Versuchen mit mehreren Torulaformen auf möglichst stickstofffreien, festen Nährböden und N-freien Nährlösungen (Lindnersche Nährlösung ohne N-Zusatz) folgert dieser Autor (vgl. Abschnitt IV der Abhandlung S. 58), daß die untersuchten Torulaarten zur Deckung ihres zur Vermehrung nötigen Stickstoffbedarfs den in der Luft enthaltenen Stickstoff herangezogen hätten. Sämtliche untersuchte Torulaformen sollen danach die Fähigkeit besitzen, den in der Luft enthaltenen Stickstoff zu assimilieren. In seinen Kulturen konnte er assimilierte Stickstoffmengen feststellen, die in 10 ccm Nährlösung zwischen 1,168 und 4,584 mg betrugen.

Unter Hinweis auf die Ergebnisse der Züchtungsversuche von Zikes (1909) mit Kahmhefen glaubte H. Will (1912) mit Recht annehmen zu dürfen, daß die Fähigkeit zur Assimilation des freien Luftstickstoffs bei den Hefen und überhaupt bei den Mikroorganismen weiter verbreitet sei, als man auf Grund der damaligen Kenntnisse annahm. Will versuchte, die von Zikes geprüften Organismen auf möglichst N-freien Nährlösungen zur Vermehrung zu bringen. Der 4 Monate lang dauernde Versuch hatte folgendes Ergebnis: Die in N-haltigen Nährlösungen gezogenen Vergleichskulturen hatten sich lebhaft entwickelt. Wahrnehmbar vermehrt und noch in deutlicher Sprossung begriffen waren aber auch auf N-freie Nährlösungen geimpfte Kulturen. Im Gegensatz zu den Kontrollkulturen erfolgte ihr Wachstum jedoch in etwas geringerem Ausmaß. Ähnlich lagen die Verhältnisse der Kulturen auf festen Nährböden. Auf Grund dieser Feststellung kam Will zu dem Ergebnis, daß alle untersuchten Torulaarten den Luftstickstoff zu assimilieren vermögen.

Durch diese Mitteilungen angeregt, nahmen R. Lindner und Naumann (1914) eine größere Anzahl Pilze auf synthetischen Nährlösungen in Kultur. Sie hatten sich dabei zur Aufgabe gemacht, die bis dahin bekannten Fälle über die Assimilation des Luftstickstoffs durch diese Organismen experimentell auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Da sich jedoch bei der späteren Analyse die hierbei verwendete Maltose

[1]) „100"; erschienen als Dissertation der Landwirtschaftlichen Hochschule in Hohenheim.

als nicht völlig stickstofffrei erwies, konnten sie ihre Versuche nur als orientierende werten. Daher stellten sie mit den drei aussichtsreichsten Mikroorganismen dieses Versuches, mit Blastoderma salmonicolor, Saccharomyces farinosa und Oidium lactis, erneut Versuche an, fanden ihre Annahme in den Versuchsergebnissen aber nicht bestätigt.

Wohl unabhängig von diesen Studien hatte Kossowicz Fragen des Stickstoffhaushalts zu klären versucht. Seine ersten Versuche (1912) mit Pilzen, unter denen sich auch einige hautbildende Hefen befanden, führten ihn zu der Annahme, daß diesen Mikroorganismen die Fähigkeit zur Assimilation des Luftstickstoffs zukomme. Spätere Versuche, die unter anderen Versuchsbedingungen zur Durchführung kamen, stellten diese Vermutung jedoch wieder in Frage. Die Saccharose der synthetischen Nährlösung (10 g Saccharose, 2 g Glukose, 2 g Mannit, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, 0,05 g $CaCO_3$, 0,01 g $CaCl_2$, 0,01 g Fe_2Cl_3 in 1000 ccm dest. Wasser gelöst) wies bei der Nachprüfung eine kleine Menge Stickstoff auf. Kossowicz folgerte daraus, daß diese Pilze nicht den elementaren Luftstickstoff zu assimilieren vermögen, dagegen die in der Luft vorhandenen Stickstoffverbindungen ausnützen könnten.

In der Folgezeit beschränkte man sich mehr oder weniger auf die Untersuchung des Stickstoffumsatzes in Mosten oder Weinen. Müller-Thurgau (1897) hatte gefunden, daß der Stickstoffgehalt eines normalen Traubenmostes für 5—6 Gärungen ausreicht und dabei der Zuckergehalt des Mostes als begrenzender Faktor anzusehen ist. Auf dieser Beobachtung aufbauend, erkannte man in späteren Versuchen über die Stickstoffernährung der Hefe die unterschiedliche Eignung der in der Nährlösung vorhandenen Stickstofformen. Während des Gärvorganges werden die Stickstoffverbindungen des Mostes durch die Hefe abgebaut und nicht mehr assimilierbare stickstoffhaltige Bestandteile wieder in die Nährlösung ausgeschieden, so daß ein stetes Stickstoffgleichgewicht erhalten bleibt (Claasen, 1926, S. 442). Niehaus (1938) fand bei südafrikanischen Mosten und Weinen während des Gärablaufs eine gesetzmäßige Abnahme des Stickstoffgehalts des Mostes.

Meißner (1901) befaßte sich mit eingehenden Untersuchungen über die Physiologie der Kahmhefen und der hautbildenden Hefen. Kahmhefen führen im Most einen vollständigen Zucker- und Säureabbau durch und treten dadurch als gefürchtete Weinschädlinge in Erscheinung. Auf der Oberfläche des Mostes bringen sie in einer sonst bei keinem anderen Mikroorganismus bekannten Schnelligkeit mächtige Hautvegetationen zur Entfaltung. Meißner sah die Erklärung hierfür im hohen Sauerstoffbedürfnis der Kahmhefen. Kossowicz (1914) brachte dagegen diese Erscheinung — wie oben erwähnt — mit der Assimilation des elementaren Luftstickstoffs in Zusammenhang, sah aber seine Feststellung in erneuten Versuchen widerlegt. Bei Züchtungsversuchen von Saccharomyces cerevisiae in einem synthetischen stickstofffreien Nährboden (100 g Nährlösung enthielten 10 g Saccharose und 0,45 g K_2HPO_4) beobachtete E. J. Fulmer (1923) in durchlüfteten Kulturen ununterbrochenes Wachstum. Die wachstumsfördernde Wirkung der Durchlüftung auf die Hefekulturen schrieb er sowohl dem Sauerstoff als auch dem Stickstoff der Luft zu. Analytische Versuche mit Nährlösungen (6 g Zuckerrohrmelasse und 0,50 g Dikaliumphosphat enthaltend), die er 2 Jahre später zusammen mit Leo M. Christansen durchführte, brachten einerseits die Bestätigung des Vorversuches und andererseits Anhaltspunkte über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung auf die Höhe der Stickstoffbindung. Im einzelnen ließen seine Versuche folgendes erkennen:

Die verwendeten Hefen hatten im dargebotenen Medium Stickstoff gebunden. Diese Bindung erwies sich als eine Funktion der H-Ionen-Konzentration. Dabei ließen sich bei p_H 6,0 und bei p_H 7,9 optimale Konzentrationen feststellen, von denen die alkalische die bedeutendere war.

Die Frage, ob Hefen den elementaren Stickstoff zu assimilieren vermögen oder nicht, wurde auch für die zoologische Symbioseforschung von Bedeutung. So schrieb Buchner (1921) in seinem Buch über Tier und Pflanze in intrazellularer Symbiose auf Seite 330 unter anderem: „Schließlich bleibt noch eine Kategorie von Fällen übrig, solche, in denen es dem Tiere gelungen ist, Organismen in sich aufzunehmen, die befähigt sind, elementaren Stickstoff zu assimilieren . . . Die Erscheinungen sind hier so verschiedenartige, die Symbionten selbst stellen bald Bakterien, bald Hefen, bald unbekannte Pilze dar. Auch die auffallend reiche Tracheenversorgung vieler solcher Organe würde eine befriedigende Erklärung finden, wenn wir in den Mycetomen tatsächlich Stickstoffwerke sehen dürften."

W. Müller, der 1934 diese Vermutung experimentell nachprüfte, konnte sie nicht bestätigen. Er fand bei Versuchen mit symbiontischen Hefen in syntheti-

scher Nährlosung (100 ccm vierfach dest. Wasser, 0,1 g K_2HPO_4, 0,02 g $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$, 0,002 g $FeCl_3$ und 5 g Glukose) bei Durchlüftung weder ein sichtbares Wachstum seiner Kultur noch Stickstoffbindung vor.

H. Schanderl (1940) hat die Frage, ob bei hautbildenden Hefen der atmosphärische Stickstoff eine Rolle spielt, unter anders gelagerten Versuchsbedingungen erneut aufgegriffen und den analytischen Nachweis zu erbringen versucht, daß die Hautbildung der Hefe an der Oberfläche der Nahrflüssigkeit im Dienste der Assimilation des Luftstickstoffs stände. Was seine Versuchsanstellung von allen bisherigen unterscheidet, ist die Art seiner Nährlösung. Statt künstlicher Nährlösung wählte er eine natürliche Nährlösung, nämlich Traubenmost mit bekanntem Stickstoffgehalt, und zog auf ihm Reinkulturen verschiedener Kahmhefegattungen heran. Nach monatelanger Versuchsdauer wurde der Endstickstoffgehalt bestimmt. Bei allen der von ihm untersuchten Stämme konnte er die Feststellung machen, daß sie mehr oder minder stark zur Assimilation des elementaren Stickstoffs der Luft befähigt sind. Die N-Zunahme betrug je nach der verwendeten Hefegattung 16,3—104 % des N-Gehalts der Ausgangslösung.

Wie aus den angeführten Arbeiten ersichtlich ist, steht die Frage der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Kahmhefen und hautbildende Hefen noch keineswegs als eindeutig entschieden da. Selbst in den neuesten Lehr- und Handbüchern der Mikrobiologie hat dieses Problem bis jetzt entweder überhaupt keine oder nur andeutungsweise Erwähnung gefunden. Trotzdem die Versuchsergebnisse Schanderls sehr für eine Befähigung der hautbildenden Hefen zur Assimilation des elementaren Stickstoffs sprechen, war daher in Anbetracht ihrer grundlegenden Wichtigkeit eine eingehendere Untersuchung der neu aufgeworfenen Streitfrage sehr am Platze.

Meine Aufgabe bestand nun darin, Schanderls Befunde unter genauer Beachtung seiner Versuchsanordnung und Ergebnisse auf ihre Richtigkeit zu prüfen und unter Einbeziehung neuer Gesichtspunkte zu erweitern. Ist doch gerade die Kenntnis der Umstände, welche die Entwicklung der Kulturen hemmen oder fördern, für die Versuchsergebnisse besonders wichtig. Bei Beurteilung dieser Ergebnisse tauchte immer wieder besonders die Frage nach der Bedeutung des Anfangsstickstoffgehaltes der Nährlösung auf. Müller-Thurgau hatte bei Untersuchungen über den Einfluß des N-Gehaltes auf den Verlauf der Gärung gefunden, daß der Gärverlauf sowie die Neubildung von Hefezellen mit steigendem N-Gehalt beschleunigt wird, in stickstoffarmen Mosten dagegen die Hefevermehrung verlangsamt wird. Weiter galt es, den Einfluß der Temperatur auf die Hautbildung und die Assimilationstätigkeit der Hefe zu prüfen. Fr. Bokorny (1902) hatte gefunden, daß die Temperaturgrenzen hierfür 5° C und 35° C betragen; bei 5° C scheine die Hefe schon gar nicht mehr zu assimilieren. Zikes (1919) gibt an, daß das Temperaturoptimum für die Hautbildung bei etwa 6° C, das Maximum aber bei 30° C und bei einigen Hefen auch noch bedeutend höher liege. In Versuchen mit Aspergillus niger kam R. Schober (1930) zu dem Ergebnis, daß erhöhte Temperatur günstig auf die N-Bindung wirke; M. Roberg konnte einige Zeit später diese Beobachtung nicht bestätigen. Zu berücksichtigen war schließlich auch die Einwirkung der Flüssigkeitsoberfläche, der Schanderl eine günstige Wirkung zuspricht. Weitere Gesichtspunkte ergaben sich im Verlaufe der Versuchsdurchführung.

B. Methodik, Material und Versuchsanordnung.

Nährlösung.

Die Frage der Bindung des Luftstickstoffs durch freilebende Mikroorganismen, also auch durch die Hefe, hat zur notwendigen Voraussetzung, daß diesen Organismen in ihren Standorten geeignete, leicht verfügbare Nährstoffe geboten werden. In meinen

Versuchen fanden synthetische Nährlösungen in folgender Zusammensetzung Verwendung:

Magnesiumsulfat	0,25 g
Monokaliumphosphat	5,00 g
Saccharose purissimum	50,00 g
Stickstoff in anorganischer und organischer Form	steigende Gaben
Alkohol	50,00 g
Propionsäure	1,00 g
Destilliertes Wasser	1000,00 g

In weiteren Versuchen verwendete ich eine 10proz. Tomatensalzlösung und einen Traubenmost mit einem Mostgewicht von 64° Öchsle und mit 12,7 g Säure im Liter. Der Most wurde blank filtriert und der jeweiligen Versuchsanordnung entsprechend stark mit destilliertem Wasser verdünnt, zu je 400 ccm in 500-ccm-Rollflaschen abgefüllt. Die Flaschen wurden mit einem Wattebausch verschlossen und an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 40 Min. lang bei 100° C im Dampftopf sterilisiert. In die nun keimfreien Nährlösungen impfte ich mit steriler Platinöse die jeweils vorgesehene Kahmhefe ein, wobei die geöffnete Flasche zur Vermeidung von Fremdinfektionen schief gehalten wurde. Die Kulturen wurden dann in Thermostaten zur Entwicklung gebracht. Vor Versuchsbeginn wurde der Gesamtstickstoffgehalt der Moste bestimmt. Er betrug 555 mg Stickstoff im Liter. Je eine Flasche blieb als Kontrolle unbeimpft. Die Kulturen wurden dann etwa alle 8—14 Tage kurz erschüttert. Durch die Erschütterung sank die Hefedecke zu Boden. Die Hefe bildete daraufhin eine neue Haut.

Besondere Aufmerksamkeit wurde der Hautbildung und der Veränderung des Mostes geschenkt.

Bestimmung des Stickstoffs.

Um bei der Probeentnahme eine gleichmäßige Durchschnittsprobe zu erhalten, wurden die Hefekulturen längere Zeit heftig durchgeschüttelt und anfangs der Gesamtstickstoff jedesmal in drei Proben zu je 50 ccm bestimmt. Da die Werte aber nur geringere Schwankungen erkennen ließen, gelangten bei den späteren Versuchen nur noch je zwei Proben derselben Flasche zur Analyse.

Nachdem die Versuchsflüssigkeit in 200-ccm-Kjeldahlkolben über dem Wasserbad siruartig eingedickt und der Rückstand mit 15—20 ccm konzentrierter Schwefelsäure (spez. Gew. 1,84) und etwas Selenigsäureanhydrid als Katalysator versetzt worden war, wurde der N-Gehalt nach Kjeldahl bestimmt. War der Rückstand genügend aufgeschlossen und abgekühlt, so folgte das Überdestillieren nach J. P. Parnas (1938) in Vorlagen mit n/20-Schwefelsäure. Im Destillat wurde durch Zurücktitrieren mit n/20-Natronlauge und einigen Tropfen „Mischindikator" (0,2 g Methylrot, gelöst in 100 ccm Alkohol, werden gemischt mit 0,125 g Methylenblau, gelöst in 100 ccm Alkohol [Umschlag von blau nach grün]), der sich als gut geeignet erwies, der Gesamtstickstoff bestimmt. Der gefundene N-Wert wurde, unter Berücksichtigung der durch Verdunstung entstandenen Volumenverluste, auf 1000 ccm Versuchsflüssigkeit umgerechnet. Zwecks Ausschaltung von Fehlerquellen wurde der Destillationsapparat 10 Min. lang vor Gebrauch mit heißem Dampf durchspült.

Hefematerial.

Bei den Versuchen wurden folgende Hefen in Kultur genommen:

Mycoderma, Stamm 12,
Willia anomala,
Pichia membranaefaciens,
Torulaspora Rosei,
eine Weinhefe aus Jerez,
Saccharomyces cerevisiae,
Oidium lactis,
Endomyces vernalis,
Penicillium glaucum
und eine Reihe weiterer Kahmhefen auf der Tomaten-Kochsalznährlösung.

Versuchsanordnung.

Die Versuchsanordnung zielte darauf ab, festzustellen, in welchem Verhältnis die Stickstoffbindefähigkeit 1. zu den Faktoren der Nährlösung,

2. zu den Umweltsverhältnissen (Außenfaktoren) steht und 3. welche von beiden ihre Größe bestimmen. Dementsprechend gliederten sich die Untersuchungen in folgende Abschnitte:

1. Der Einfluß der Nährlösung auf die Stickstoffassimilation. Hier sollte der Einfluß der Stickstoffkonzentration der Nährlösung auf die Mächtigkeit der Hautbildung und gegebenenfalls auf Stickstoffbindung geprüft werden. Daß sie von Bedeutung sein kann, geht schon aus der Tatsache hervor, daß die Kahmhefen auf nährstoffarmen künstlichen Nährlösungen nur geringe Entwicklung aufweisen, auf Traubenmosten dagegen üppig gedeihen.

2. Der Einfluß der Temperatur auf die Stickstoffassimilation. In einem Vorversuch wurde zunächst der Einfluß der Temperaturen 12° C, 27° C und 32° C untersucht. Durch Einschalten der Zwischentemperaturen 18 und 23° C wurden die Untersuchungen später auf 5 Temperaturgrade erweitert.

3. Der Einfluß der Oberfläche auf die Stickstoffassimilation wurde an freien Oberflächen von 19,63, 48,7 und 165,6 qcm verfolgt. Bei einer späteren Nachprüfung berücksichtigte ich noch andere Größen, wie

4. den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Stickstoffassimilation,

5. den Einfluß der in der Luft vorhandenen Stickstoffverbindungen auf die Bindung des elementaren Stickstoffs,

6. die Verteilung des Stickstoffs in der Nährlösung und ihr Verbrauch durch den Pilz,

7. Versuche mit anderen Pilzarten und gewöhnlicher Weinhefe.

C. Versuchsergebnisse.

1. Versuche über den Einfluß der Nährlösung.

Zunächst wurden orientierende Versuche angestellt, um eine brauchbare Nährlösung zu bekommen. Es war nun naheliegend, zuerst ebenfalls auf synthetische Nährlösungen zurückzugreifen.

a) Versuche mit synthetischer Nährlösung.

1. Stickstofffreie Nährlösung.

In einem Vorversuch wurden von der im Abschnitt über Methodik (S. 329) besprochenen N-freien Nährlösung je 400 ccm in 500 ccm Rollflaschen abgefüllt und jede Flasche mit einer anderen Kahmhefe beimpft. Die Kulturen wurden an einem möglichst ruhigen Platze sich selbst überlassen. Im Laufe des Versuchs kam es zu einer wahrnehmbaren, wenn auch spärlichen Hautbildung. Bei der nach einem Jahr erfolgten Analyse konnten in den Versuchsgefäßen folgende N-Mengen festgestellt werden.

Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm:

1. Kontrolle	2,3
2. *Mycoderma vini* 12	7,0
3. *Willia anomala*	5,8
4. *Pichia membranaefaciens*	9,3
5. *Pichia farinosa*	11,6
6. Jerezhefe 1935	8,16

Bei den einzelnen Versuchen war demnach eine, wenn auch nur geringe, Stickstoffbindung erfolgt. Sie schwankt in den Grenzen von 5,8—11,6 mg

im Liter. Aber auch die unbeimpfte Kontrolle hat eine Stickstoffzunahme erfahren. Wenn auch der N-Gewinn der beimpften Kulturen um mehrere mg im Liter größer ist als der der Kontrolle, so kommt doch diesen Werten bei einer einjährigen Versuchsdauer keine allzu große Bedeutung zu.

Zur Klärung der Frage über die N-Assimilation durch Mikroorganismen scheinen demnach künstliche N-freie Nährlösungen wenig geeignet zu sein. Die auf ihnen erzielten Stickstoffgewinne können allzu leicht innerhalb der Fehlergrenze liegen, so daß sie eine eindeutige Beurteilung nur schwer zulassen. Meine Werte liegen zwar noch eindeutig über der Fehlergrenze, aber nur deshalb, weil sie aus einem langandauernden Versuch stammen (1 Jahr!).

2. Stickstoffhaltige Nährlösung.

Das Ergebnis des Vorversuches, das in der äußerst langsamen Hautentwicklung der Hefe auf absolut N-freier künstlicher Nährlösung seine Erklärung findet, veranlaßte mich, in weiteren Versuchen die Rolle des Stickstoffs in solchen Nährlösungen zu studieren. Meine Vermutung ging dahin, daß die erste Entwicklung der hautbildenden Hefe an die Gegenwart einer gewissen Menge Stickstoff innerhalb der Nährlösung geknüpft sein könnte. Diesem Stickstoff käme dann nur die Aufgabe zu, den Hefen das „Starten" zu ermöglichen, während sie sich später auf Kosten des elementaren Luftstickstoffs zu ernähren vermögen. Ob als solcher Stickstoff in organischer oder anorganischer Form wirksamer ist, mußte ein Versuch erkennen lassen.

Die Versuche wurden mit einem Zusatz von 5 mg, 10 mg, 20 mg und 40 mg Stickstoff im Liter in anorganischer und in organischer Form angesetzt und bei 27° C im Thermostaten gehalten. Als anorganische Stickstoffquelle wurde primäres Ammoniumphosphat und als organische Asparagin gewählt. Die Beimpfung erfolgte in Versuchsreihen mit Mycoderma vini 12, Willia anomala, Pichia membranaefaciens und Torulaspora Rosei.

Im einzelnen ließen sich bei den Kulturen folgende Beobachtungen machen:

a) Mycoderma vini 12.

Fast einheitlich konnte nach vier Tagen unabhängig von der Stickstoffform und Stickstoffmenge der Beginn der Hautbildung festgestellt werden. Die Vermehrung der Hefen erfolgte jedoch recht schleppend. Die Haut erreichte in keiner Nährlösung eine besondere Dicke, blieb im Gegenteil hauchdünn und wies sonst keine Besonderheiten auf, die Beziehungen zur Stickstoffkonzentration und Stickstoffform zuließen. Eine Stickstoffbindung schien daher kaum erfolgt zu sein. Die Kulturen wurden nach sechswöchiger Versuchsdauer auf ihren Stickstoffgehalt untersucht, nach weiteren vier Wochen schloß sich eine zweite Untersuchung an. Die Analysenergebnisse gehen aus nachfolgender Zusammenstellung hervor:

Tabelle 1.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm Nährlösung.

Bei Versuchsbeginn	5		10		20		40	
	anorg.	organ.	anorg.	organ.	anorg.	organ.	anorg.	organ.
I. Analyse	4,98	5,01	10,02	10,3	20,9	20,9	41,7	41,75
II. Analyse	5,39	5,44	10,58	10,7	21,73	21,7	42,6	42,8

Die Übersicht läßt erkennen, daß sich sämtliche Werte auf der Höhe des Anfangsstickstoffgehaltes bewegen. Es hat also in den ersten sechs Wochen

praktisch weder eine Zunahme noch eine Abnahme stattgefunden. Auch bei der zweiten Analyse nach weiteren vier Wochen läßt sich keine wesentliche Zunahme feststellen.

b) Willia anomala.

Die Anlage der Haut ging recht langsam vor sich. Mit Ausnahme der Kulturen mit 5 mg Stickstoff im Liter, die nur einen halben Tag länger für die Hautbildung benötigten, verstrichen ganz unabhängig von der jeweiligen Konzentration und Stickstofform vier Tage bis zum Wachstum der Haut. Die Haut blieb zart und erreichte keine nennenswerte Stärke. Kleinere Teile sanken stetig ab.

Sechs Wochen nach Versuchsbeginn wurden die Kulturen der chemischen Analyse unterzogen. Eine weitere schloß sich vier Wochen nach dieser an. Die Bestimmungen wiesen nachfolgende Ergebnisse auf:

Tabelle 2.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm Nährlösung.

Bei Versuchsbeginn	5		10		20		40	
	anorg.	organ.	anorg.	organ.	anorg.	organ.	anorg	organ.
I. Analyse	4,99	5,12	10,0	10,08	20,45	20,4	40,6	40,5
II. Analyse	5,48	5,29	11,7	11,9	21,8	21,7	41,3	41,1

Die erste Analyse weist Größen auf, die nur unwesentlich von denen der Ausgangslösung abweichen. Die Kulturen verfügen also praktisch fast über ein Stickstoffgleichgewicht. Über eine nur unwesentliche Veränderung des Stickstoffgehaltes berichtet auch das Ergebnis der zweiten Analyse. Wenn sich auch hier der Unterschied zahlenmäßig in etwas größerer Höhe bewegt, so kann doch nicht von einer eindeutigen Stickstoffbindung die Rede sein.

c) Pichia membranaefaciens.

Die Kulturen schritten fast einheitlich nach 4½ Tagen zur Hautbildung. In der Hautentwicklung traten kaum feststellbare Unterschiede auf. Die Haut blieb zart, wurde später etwas stärker als die von Mycoderma vini 12 und Willia anomala, ließ jedoch auch keine Abhängigkeit von der Nährlösung erkennen. Die nach 6 und 10 Wochen vorgenommenen Analysen ergaben folgende Werte:

Tabelle 3.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm Nährlösung.

Bei Versuchsbeginn	5		10		20		40	
	anorg.	organ.	anorg.	organ.	anorg.	organ.	anorg.	organ.
I. Analyse	5,0	5,0	10,05	10,08	20,9	21,00	40,56	40,33
II. Analyse	5,17	5,29	11,8	11,95	21,3	21,6	41,9	41,1

Es geht daraus hervor, daß der Ausgangsstickstoffgehalt praktisch keine Veränderung erfahren hat. Auch diese Versuchsreihe läßt keine Einwirkung der als Stickstoffquelle verabreichten Stickstoffverbindung und ihrer zunehmenden Größe erkennen. Die Erntemenge erreichte wiederum Werte, die von keiner eindeutigen Zunahme sprechen lassen.

d) Torulaspora Rosei.

Gegenüber den drei anderen Hefen wurde bei diesen Kulturen keine Hautbildung beobachtet. Die Vermehrung vollzog sich am Boden der Gefäße. Unterschiede konnten nicht festgestellt werden.

Die Analysen ergaben folgende Verhältnisse:

Tabelle 4.

Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm Nährlösung.

Bei Versuchsbeginn	5		10		20		40	
	anorg.	organ.	anorg.	organ.	anorg.	organ.	anorg.	organ.
I. Analyse	5,00	5,13	10,05	10,00	20,90	20,80	40,56	40,67
II. Analyse	5,09	5,29	11,00	11,10	21,30	21,30	42,00	42,00

Auch diese Werte bewegen sich in gleicher Höhe wie die Ausgangslösung. Eine Zunahme hat nicht stattgefunden.

Als Ergebnis der vorstehenden 8 Versuchsreihen läßt sich mithin zusammenfassen: Durch Verabreichung verschieden groß gewählter Mengen von primärem Ammoniumphosphat und Asparagin in synthetischen Nährlösungen konnte keine bedeutende Zunahme des Stickstoffgehaltes, also keine eindeutige Assimilation des elementaren Luftstickstoffs erzielt werden. Damit fällt die Annahme Schanderls, daß dem Ausgangsstickstoffgehalt allein die ausschlaggebende Bedeutung zukommt. Welche weiteren Stoffe (Bios?) hierbei noch mitspielen, kann vorerst noch nicht gesagt werden.

b) Natürliche Nährlösungen.

1. Eine Tomaten-Kochsalzlösung.

Nachdem es mir also nicht gelungen war, bei Verwendung von synthetischen Nährlösungen eindeutig positive Stickstoffbindung nachzuweisen, wählte ich in den weiteren Versuchen Nährlösungen, die die organischen Nährstoffe in natürlicher Bindung enthalten. Zunächst war es eine Tomaten-Kochsalzlösung, die dadurch gewonnen worden war, daß ganze Tomaten 10 Tage lang der Einwirkung einer 10 proz. Kochsalzlösung ausgesetzt worden waren. Je 400 ccm der klarfiltrierten Lösung kamen in 500-ccm-Rollflaschen im Dampftopf zur Sterilisation und anschließend zur Beimpfung mit den untenstehenden Kahmhefen. Eine unbeimpft gebliebene Vergleichsflasche mit der Ausgangsnährlösung (Kontrolle) enthielt 16,3 mg Stickstoff im Liter. Schon nach kurzer Zeit konnte bei den übrigen Versuchsflaschen die Bildung der für die jeweilig verwendete Hefe typische Kahmhaut festgestellt werden. Diese blieb wohl etwas dünn. Nach 18 tägiger Versuchszeit lagen die Stickstoffwerte aber bereits um mehrere mg Stickstoff im Liter höher als die der Kontrolle. Zehn Wochen später hatten sie noch mehr zugenommen. Den Höchstwert erbrachte Pichia spec. mit 44,9 mg Stickstoff im Liter, was einer Zunahme von über 100% entspricht. Die Werte der übrigen Kulturen sind ähnlich und gehen aus nachfolgender Tabelle hervor. Dabei darf allerdings Mycoderma bispora XII, die noch höhere Stickstoffwerte erbrachte, nicht mit den anderen Hefen verglichen werden, da sie in der Kulturflasche anfangs keine Entwicklung zeigte und deshalb nachgeimpft werden mußte.

Tabelle 5.
Stickstoffgehalt einer Tomaten-Kochsalzlösung nach verschieden langer Einwirkung von Kahmhefen in Milligramm auf 1000 ccm.

Hefeart	nach 7 Wochen	nach 4 Mona en	nach 6 Monaten	nach 7¼ Monaten
Kontrolle	16,3	16,35	16,5	16,5
Pichia farinosa	23,3	37,3	42,0	39,3
Pichia spec.	23,9	38,5	44,9	43,8
Pichia membranaefaciens	23,38	43,1	44,3	44,0
Willia anomala 1	22,28	38,5	39,8	39,7
Willia anomala 2	21,71	38,5	41,3	41,1
Willia anomala 3	20,04	38,3	41,2	41,1
Mycoderma vini 10	22,73	39,2	43,1	42,9
Mycoderma vini 12	22,56	39,0	40,8	40,7
Mycoderma bispora XII	—	—	56,0	59,0

Die Werte entstammen alle jeweils derselben Rollflasche. Sie zeigen ein Ansteigen des Stickstoffgehaltes während der ersten 6 Monate. Die nächsten Werte liegen merkwürdigerweise meist wieder etwas niedriger. Da aber bereits schon zwischen der zweiten und dritten Analyse festgestellt werden konnte, daß keine Hautbildung mehr zustande kam, dürfte der Rückgang des N-Gehaltes bereits schon zu einem früheren Zeitpunkt eingesetzt haben. In der Annahme, daß dieser Rückgang durch den Stillstand der Hautbildung bedingt und mit einer Erschöpfung der Kohlenstoffquelle zusammenhängen könnte, hatte ich bereits vor der 3. Analyse je Kultur 5 ccm Alkohol verabreicht. Diese Maßnahme hatte jedoch keinen Einfluß mehr auf die Hautbildung. Immerhin zeigen alle diese Kulturen eine beachtliche Stickstoffanreicherung, so daß man die dabei verwendete Nährlösung als wesentlich besser geeignet zur Lösung der gestellten Aufgabe ansehen darf.

2. Traubenmost als Nährlösung.

Nach dem Ausfall der bisherigen Versuche steht fest, daß die Kahmhautentwicklung in synthetischen Nährlösungen, selbst bei Zusatz von organischen oder anorganischen Stickstoffverbindungen nicht normal genannt werden kann.

Die Ergebnisse mit der Tomaten-Kochsalzlösung waren schon wesentlich besser als die der synthetischen Nährlösungen ausgefallen. In Anlehnung an die Versuche von H. Schanderl wählte ich daher in weiteren Versuchen ein natürliches Nährsubstrat, nämlich Traubenmost.

Es wurden folgende Mostkonzentrationen unter sonst einheitlichen Versuchsbedingungen angewandt, die durch Verdünnen des Ausgangsmostes mit Wasser im Verhältnis von Wasser zu Most = 9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 6 : 4, 5 : 5, 4 : 6, 3 : 7, 2 : 8, 1 : 9 und 0 : 10 hergestellt wurden. Es war nun festzustellen, wie sich die dadurch erzielte bestimmte Staffelung der Nährstoffe auf die Hautentwicklung der auf diesen Nährlösungen in Kultur genommenen Hefen Mycoderma vini 12, Willia anomala, Pichia membranaefaciens und Torulaspora Rosei auswirken würde. Es konnte dies allerdings weniger durch Erfassen der genauen

Zahl der innerhalb desselben Volumens vorhandenen Hefezellen, als durch Beobachtung der Schnelligkeit und der Mächtigkeit der Deckenbildung und des abgesetzten Hefetrubs geschehen. Auch wurde aus versuchstechnischen Gründen von einer gewichtsmäßigen Erfassung abgesehen. Dagegen wurde der mikroskopischen Überwachung mehr Bedeutung beigemessen. Es war ja anzunehmen, daß ein größerer Nährstoffvorrat nur günstig auf das Hefewachstum wirken und deshalb seinen sichtbaren Ausdruck in besser ernährten Zellen finden müßte.

Die Beobachtungen erstreckten sich auf 4½ Monate. Das Wachstum war bei allen 4 Hefen recht gut. Die erste Vermehrung bis zum Zeitpunkt der geschlossenen Haut zeigte nur gattungsmäßig bedingte Unterschiede und verlief unabhängig von der jeweiligen Konzentration.

Von den 4 Hefen zeigte Pichia membranaefaciens die beste Hautentwicklung. Ihr am nächsten kam Willia anomala und dann, von dieser kaum verschieden, Mycoderma vini 12. Erst bei der späteren Entwicklung konnte von einem sichtbaren Einfluß der Nährstoffkonzentration gesprochen werden. Die feststellbaren Unterschiede sind in nachfolgender Übersicht zusammengestellt.

Tabelle 6.

Stand der Hautbildung nach 7tägiger Versuchsdauer.

a) Mycoderma vini 12:

Verdünnungsgrad von Most : Wasser		
1 : 9	Haut geschlossen,	zart
2 : 8	„ „	stärker
3 : 7	„ „	etwas stärker, grob gekräuselt
4 : 6	„ „	dicker, grob gekräuselt
5 : 5	„ „	etwas dicker, grob gekräuselt
6 : 4	„ „	noch dicker, grob gekräuselt, sinkt leicht ab
7 : 3	„ „	noch dicker, grob gekräuselt, sinkt leicht ab
8 : 2	„ „	wesentlich stärker, grob gekräuselt, in größeren Stücken absinkend
9 : 1	„ „	wesentlich stärker, grob gekräuselt, in größeren Stücken absinkend
10 : 0	„ „	besonders stark, grob gekräuselt, schon stark abgesunken;

14 Tage später: Die Haut ist im allgemeinen und mit steigender Konzentration stärker geworden;

28 Tage später: Die Haut ist in allen Verdünnungsgraden noch mächtiger geworden;

44 Tage später: Zwischen Haut und abgesetztem Hefetrub ist eine klare Flüssigkeit. Die Haut ist farblos und zeigt mit steigender Konzentration stärker werdende grobe Kräuselung;

55 Tage später: Die Hautbildung hat nicht mehr zugenommen. Die Haut ist farblos bis weißgrau, die Flüssigkeit klar.

Da sich der Ablauf der Hautentwicklung der anderen Hefen im wesentlichen mit der bei der Mycodermakultur dargestellten deckt, fasse ich meine Beobachtungen auf die wesentlichsten Punkte zusammen.

b) Willia anomala: Die Haut blieb farblos und wurde mit zunehmender Konzentration dicker, ohne aber die Stärke der Decke von Pichia membranaefaciens zu erreichen. 7 Tage nach Versuchsbeginn ließ sich vom Verdünnungsgrad 5 : 5 ab leichte Gärung, bzw. Blasenbildung feststellen. Bei späteren Beobachtungen waren diese Verhältnisse noch ausgeprägter. Die Flüssigkeit wurde durch die absinkenden Hefezellen mehr und mehr getrübt. Die Haut bildete auf dem unverdünnten Most eine dicke, träge, grobgekräuselte, fettige Masse. Beim Abschütteln trat starke Schaumbildung ein, was auf Gärung schließen ließ.

c) Pichia membranaefaciens zeigte in allen Verdünnungsgraden eine bessere Entwicklung. Die Haut war kräftiger als bei den erstgenannten Hefen. Auch war die Hautanlage in kürzerer Zeit erfolgt. 7 Tage nach Versuchsbeginn waren bereits schon Teile davon abgesunken.

Mit steigender Konzentration und längerer Versuchszeit wurde die Deckenbildung mächtiger. Die Decke sank bei kleinsten Erschütterungen in groben Flocken ab. Die Haut hatte einen fettigen Glanz, der bei den höheren Mostkonzentrationen ausgeprägter wurde.

d) Torulaspora Rosei: Bei den Kulturen von Torulaspora Rosei kam es zu keiner Hautbildung. In einigen Kulturen mit kleiner Oberfläche trat nur die Bildung eines geringen Heferings auf. Dagegen wurde ein deutlicher Hefebodensatz gebildet. Die Flüssigkeit blieb klar. Mit zunehmender Konzentration war stärker werdende Gärung festzustellen.

Ein besonderer Einfluß der Konzentration zeigte sich in den Willia- und Torulakulturen durch stärker werdende Gärung. Dieselbe erreichte im unverdünnten Most ihr größtes Ausmaß.

Bei der mikroskopischen Untersuchung konnte eine starke Abhängigkeit von der jeweiligen Konzentration festgestellt werden. Die Vermehrung der Zellen war bei allen verwendeten Hefen in unverdünntem Most am stärksten und nahm mit geringerer Konzentration ab. Dieselben Verhältnisse wies auch die Größe der Zellen auf. Im unverdünnten Most erreichte sie ihr Maximum und nahm mit dem Grad der Verdünnung ab. In der starken Verdünnung zeigten die Zellen eine mehr gestrecktere, ovale und elliptische Gestalt, in der höheren Konzentration mehr runde Formen. Auffallender noch gestaltete sich der Einfluß der Konzentration auf die Größe der Zellen. Die geringere Mostkonzentration wies kleinere Zellen auf, die in der höher konzentrierten Versuchslösung herangewachsenen Hefezellen aber waren größer und kräftiger entwickelt.

Schon mit bloßem Auge ließ sich nach der Menge des Hefeniederschlags beurteilen, in welcher Konzentration und bei welcher Hefegattung die Vermehrung rascher oder langsamer voranging. Den größten Bodensatz wies Pichia membranaefaciens in unverdünntem Most, den kleinsten Torulaspora Rosei in der stärksten Verdünnung auf. Die höhere Konzentration hatte also einen günstigen Einfluß auf die Kulturen ausgeübt. Die Bildung des Niederschlags wurde nach neunwöchiger Versuchszeit genau verfolgt, indem die Zunahme des Depots in gewissen Zeitabständen ermittelt wurde. Dabei ergaben sich die in der Tabelle 7 aufgezeichneten Werte.

Ein wahrnehmbarer Zuwachs trat im weiteren Verlauf nicht mehr ein. Scheinbar war die Vermehrung zu einem Stillstand gekommen. Vereinzelt sprossende Zellen ließen sich trotzdem noch ermitteln. Die stärkste Vermehrung hatte also schon innerhalb der ersten 9 Wochen stattgefunden. Wie nun aus der Zusammenstellung ersichtlich ist, wies Pichia membranaefaciens das mächtigste Hefedepot und dementsprechend das lebhafteste Wachstum auf. Wie bereits angedeutet, hatte sie am schnellsten eine Haut gebildet. Entsprechend dem späteren Eintritt ihrer Hautbildung folgte Mycoderma vini 12 in der Ablagerung des Hefedepots mit gewissem Abstand. Beide Kahmhefen rufen in den Kulturen keine Gärung hervor und lassen dadurch, wie auch durch ihre ähnliche Zellform, auf eine nahe Verwandtschaft schließen. Eine etwas geringere Mächtigkeit erreichte das Hefedepot bei Willia anomala. Zwar hatte auch diese Hefe verhältnismäßig schnell eine geschlossene Haut gebildet, ihre weitere Entwicklung konnte aber infolge von Trübungserscheinungen nicht mehr verfolgt werden. Ihre Haut war anfangs weiß, legte sich dann in Falten und nahm

Tabelle 7.
Zunahme des Hefedepots in Zentimeter Höhe nach verschieden langer Einwirkung von Kahmhefen.

Verdünnungsgrad	nach 9 Wochen	nach 10½ Wochen	nach 12½ Wochen	nach 14½ Wochen
	a) Mycoderma vini 12			
1 : 9	0,5	0,55	0,65	0,65
3 : 7	0,6	0,7	0,75	0,75
5 : 5	0,7	1,1	1,2	1,2
7 : 3	0,75	1,3	1,5	1,5
9 : 1	0,85	1,6	1,7	1,7
10 : 0	0,9	1,8	1,85	1,85
	b) Willia anomala			
1 : 9	0,15	0,3	—	0,3
3 : 7	0,3	0,4	—	0,45
5 : 5	0,45	0,5	—	0,6
7 : 3	0,55	0,55	—	0,75
9 : 1	0,6	0,6	—	0,8
10 : 0	0,63	0,7	—	0,85
	c) Pichia membranaefaciens			
2 : 8	0,8	1,0	1,1	1,1
4 : 6	1,5	1,6	1,7	1,7
6 : 4	2,0	2,1	2,25	2,3
8 : 2	2,5	2,6	2,75	2,8
10 : 0	2,8	3,0	3,2	3,2
	d) Torulaspora Rosei			
	bildete nur Bodensatzhefe, die in den verschiedenen Verdünnungsgraden kaum meßbare Unterschiede aufwies.			

eine leichte Rosafärbung an. Die einsetzende Gärung hat offensichtlich eine Verzögerung in der weiteren Deckenbildung zur Folge gehabt, so daß sie in dieser Hinsicht gegenüber den anderen Hefearten weit nachsteht.

Mit Ausnahme der nichthautbildenden Torula-Hefe hatte sich also die höhere Konzentration der Nährlösung auf das Wachstum der Kahmhefekulturen günstig ausgewirkt, was sich in verstärkter Hautbildung erkennen ließ.

Mit der Feststellung der stärkeren Deckenbildung bei höheren Konzentrationen rückte aber zugleich auch die Frage in den Vordergrund, wie sich diese Vorgänge im Stickstoffgehalt des Mostes auswirken. Um dieses zu klären, wurden die Kulturen nach 10-wöchiger Versuchsdauer auf ihren Stickstoffgehalt hin untersucht. Der Ausgangsmost hatte einen Stickstoffgehalt von 555 mg im Liter, der durch Verdünnung mit Wasser entsprechend herabgesetzt worden war. Der Stickstoffgehalt der Kulturen zu Beginn und am Ende des Versuchs geht aus der Tabelle 8 hervor.

Den Ausgangslösungen gegenüber läßt diese Zusammenstellung allgemein eine deutliche Stickstoffzunahme und dann auch deren Abhängigkeit von der jeweiligen Konzentration erkennen. Die Stickstoffbindung zeigt mit stärkerer Konzentration eine größere Zunahme. Sie ist bei allen vier Hefen in der stärksten Verdünnung am kleinsten und nimmt mit größerer Konzentration mehr und mehr zu. Die höchsten Stickstoffgewinne erreichte in allen Konzentrationen Pichia membranaefaciens. Etwas kleiner sind

Tabelle 8.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm nach 10 Wochen.

Verdünnungsverhältnis der Nährlösung (Most : Wasser)	1 : 9	2 : 8	3 : 7	4 : 6	5 : 5	6 : 4	7 : 3	8 : 2	9 : 1	reiner Most
Bei Versuchsbeginn . . .	55,5	111	166,5	222	277,5	333	388,5	444	497,5	555
Mycoderma vini 12 . . .	108	160	220	286	349	419	495	560	628	712
Willia anomala	81	148	212	278	342	410	476	546	615	706
Pichia membranaefaciens	120	188	260	328	396	468	532	600	671	742
Torulaspora Rosei . . .	96	152	212	268	328	388	446	511	572	640

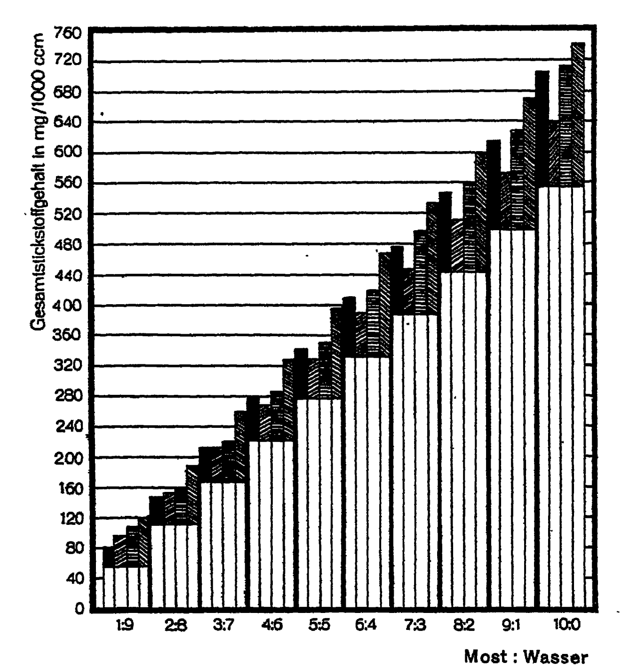


Abb. 1. Der Einfluß der Konzentrationsverhältnisse im Traubenmost auf die Bindung des elementaren Luftstickstoffs bei 27° C durch Mycoderma vini 12, Willia anomala, Pichia membranaefaciens und Torulaspora Rosei. □ = Ausgangsstickstoffgehalt, ■ = N-Gewinn der Williakulturen, /// = N-Gewinn der Torulakultur, ≡ = N-Gewinn der Mycodermakultur, \\\ = N-Gewinn der Pichiakultur.

die der Mycoderma-Kulturen. An dritter Stelle folgen die von Willia anomala. Die nichthautbildende Torulaspora Rosei verfügt dagegen nur über eine verhältnismäßig kleine Stickstoffzunahme. Der absolut höchste Stickstoffgewinn wurde in unverdünntem Most erreicht, prozentual aber schneidet die stärkste Verdünnung bei allen vier Hefen am besten ab.

Im zeitlichen Verlauf gesehen, liegen die Verhältnisse bei allen vier Hefen im großen und ganzen einander ähnlich. Der Eintritt der Stickstoffbindung ist bei allen vier auf einen verschiedenen Zeitpunkt festzusetzen. Am frühesten erfolgte er bei Pichia membranaefaciens, etwas später bei Mycoderma vini 12 und Willia anomala. Bei Willia anomala leidet die Stickstoffbindung jedoch durch die gleichzeitig stattfindende Gärung. Starke Beeinträchtigung durch die Gärung fand sie auch bei Torulaspora Rosei. Außerdem konnte hier keine Hautbildung festgestellt werden.

Der Verlauf der Stickstoffbindung geht aus nachstehender Tabelle hervor: Ich begnüge mich dabei mit der Wiedergabe der angeführten drei Hauptkonzentrationen.

Die Stickstoffbindung in den Kulturen hatte also während der ersten 10 Wochen deutlich zugenommen. Von dieser Zeit ab läßt sie dann nach.

Tabelle 9.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm in zeitlicher Entwicklung gesehen.

	Verdünnung Most : Wasser 1 : 9	Verdünnung Most : Wasser 5 : 5	Reiner Most
	N mg im Liter		
a) Mycoderma vini 12			
Bei Versuchsbeginn . . .	55,5	277,5	555
Nach 10 Wochen	108	349	712
„ 14 Wochen	116	358	721
„ 18 Wochen	118	362	724
„ 22 Wochen	119	364	726
„ 26 Wochen	118	364	726
b) Willia amonala			
Bei Versuchsbeginn . . .	55,5	277,5	555
Nach 10 Wochen	81	342	706
„ 14 Wochen	86	347	712
„ 18 Wochen	89	350	716
„ 22 Wochen	91	351	717
„ 26 Wochen	92	351	717
c) Pichia membranaefaciens			
Bei Versuchsbeginn . . .	55,5	277,5	555
Nach 10 Wochen	120	396	742
„ 14 Wochen	122	402	746
„ 18 Wochen	124	405	748
„ 22 Wochen	125	407	749
„ 26 Wochen	125	407	749
d) Torulaspora Rosei			
Bei Versuchsbeginn . . .	55,5	277,5	555
Nach 10 Wochen	96	328	640
„ 14 Wochen	99	332	645
„ 18 Wochen	101	335	647
„ 22 Wochen	102	336	648
„ 26 Wochen	102	336	648

Insbesondere ist bei den letzten Analysen kaum noch eine wesentliche Zunahme zu verzeichnen. Dieser etwas eigenartige Verlauf der N-Anreicherung läßt sich folgendermaßen erklären. Die Vermehrung der Hefen und im weiteren die Stickstoffbindung wird durch die Anwesenheit der verschiedenen Nährstoffe angeregt und in Gang gehalten. Da sich diese Nährstoffe in Traubenmost in leicht zugänglicher Form vorfinden, setzt dieser Vorgang, sobald eine genügende Anzahl Hefezellen vorhanden ist, lebhaft ein. Mit der Zeit aber werden die Nährstoffe vollständig

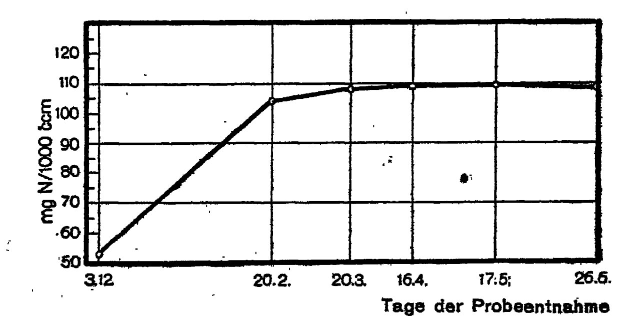


Abb. 2. Der zeitliche Verlauf der Bindung des elementaren Luftstickstoffs durch Mycoderma vini 12 bei 27° C in einem Traubenmost mit 55,5 mg Stickstoff im Liter.

verbraucht, so daß die weitere Vermehrung der Hefe eine Einschränkung erfährt. Mit fortschreitender Entwicklung tritt diese Verknappung immer mehr in Erscheinung, entsprechend wird das Hefewachstum immer kleiner. Verfügt der Traubenmost über keine Nährstoffe mehr, so stellt die Hefe ihre Vermehrung ein. Wenn trotzdem noch sprossende Zellen gefunden werden konnten, so dürften diese auf die inzwischen eingetretene Autolyse alter Hefezellen zurückgehen.

Je länger indessen die Versuchsdauer gewählt wird, desto auffälliger tritt diese Entwicklungshemmung in Erscheinung. Schließlich mag sie auch mit einer Verknappung leicht assimilierbarer Kohlenstoffverbindungen zusammenhängen. Zur weiteren Beschaffung des Kohlenstoffs müßten dann die Stickstoffverbindungen des Traubenmostes abgebaut werden, wodurch der Stickstoff dieser Verbindungen in Freiheit gesetzt würde und z. T. entweichen könnte. Durch diese Annahme fände auch die merkwürdige Feststellung eine befriedigende Erklärung, daß sämtliche Kulturen nach gewisser Versuchsdauer keinen weiteren Anstieg in ihrer Stickstoffbindung erkennen lassen und schließlich sogar Werte aufweisen können, die sich selbst unterhalb der einmal erreichten Höhe bewegen.

Diese Vermutung kann sich auf Literaturhinweise stützen. Es ist bekannt, daß die Hefe bei höheren Temperaturen flüchtige Stickstoffverbindungen zu bilden vermag. Ehrlich stellte bei der Vergärung von Aminosäuren durch Hefe die Bildung von Ammoniak und Alkohol fest.

Schließlich darf auch die Tatsache nicht außer acht gelassen werden, daß durch die Tätigkeit der Hefe in den geschlossenen Kulturen eine Ansammlung schädlicher, entwicklungshemmender Stoffwechselprodukte entsteht.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen der Konzentration der Nährstoffe in natürlichen Nährlösungen eine ausschlaggebende Bedeutung für die Stickstoffbindung durch hautbildende Hefen zukommt. Von nicht geringerer Bedeutung ist dabei aber auch die Art und die Zusammensetzung der Nährlösung. Synthetische Nährlösungen erwiesen sich als wenig geeignet.

2. Der Einfluß der Temperatur auf die Assimilation des elementaren Luftstickstoffs.

Nachdem also feststand, welch große Bedeutung der Art und der Zusammensetzung der Nährlösung bei der Bindung des elementaren Luftstickstoffs durch hautbildende Hefen zukommt, wandte ich mich dem Studium des Einflusses der Temperatur auf die Höhe der N-Bindung zu. Zu diesem Zweck wurde eine Versuchsreihe mit den genannten Hefen in 500-ccm-Rollflaschen, die mit 400 ccm verdünntem Most angefüllt waren, angesetzt und bei konstanten Temperaturen von 12, 27 und 32° im Thermostaten zur Entwicklung gebracht. Zur Beobachtung kamen vor allem der Beginn und die Art der Hautbildung. Unterschiede traten deutlich in Erscheinung, was besonders für die untere gegenüber den beiden höher gewählten Temperaturgrenzen zutrifft. Bei 27 und 32° C wurde die Haut etwa gleichzeitig und in kürzerer Zeit gebildet. Dagegen dauerte es bei 12° C etwa 3 Tage länger. Auch die weitere Entwicklung ging wesentlich langsamer vor sich. Entsprechend der unterschiedlichen Hautanlage erhielt die Decke eine andere Beschaffenheit. Bei der tiefen Temperatur blieb sie zart und nahm nur ganz allmählich zu. Ein besseres Wachstum ließen die Kulturen bei den beiden oberen Temperaturen erkennen. Ihre Decken nahmen schnell und in gleichem Umfange zu. Ausgeprägte Unterschiede waren zwischen den vier Gattungen selbst

zu verzeichnen. Bei allen Temperaturen ließen sich die ersten Zellverbände in den Pichia-Kulturen nachweisen. Mit geringem zeitlichen Abstand folgten die Willia-Kulturen und schließlich die Mycoderma-Kulturen. Torulaspora Rosei schied als nichthautbildende Hefe bei diesem Vergleich aus. Diese Reihenfolge blieb sowohl bei den beiden höheren, als auch bei der tiefen Temperatur gewahrt. Unterschiedlich war auch die Beschaffenheit der Zellverbände. Bei der untersten Temperatur zeigten sie sich allgemein fester, bei den höheren Temperaturen dagegen loser verkettet, weshalb die Hautdecken der beiden letzteren auch leichter absanken.

In zeitlicher Reihenfolge gesehen, ergab sich für die bei den beiden oberen Temperaturen gewachsenen Hefen folgendes Bild: Wenige Tage nach Versuchsbeginn fand sich auf der Pichia-Kultur eine geschlossene Decke vor. Sie wurde zusehends stärker. Am nächsten Tag war auch die Flüssigkeitsoberfläche der Willia-Kultur von einer vollständigen Haut überzogen. Fast gleichzeitig schloß sich auch die Decke der Mycoderma-Kultur. Die Haut der beiden letztgenannten erreichte aber nicht die Mächtigkeit der Pichia-Kultur. Das Wachstum der Willia- und Mycoderma-Hefe erfolgte anfangs mehr in Form kleiner, an der Oberfläche zerstreuter Inseln. Die Haut von Mycoderma vini 12 sank leicht ab. Die Willia-Decke hielt sich länger an der Oberfläche. Scheinbar besitzt diese einen besseren Zellverband und täuscht dadurch eine größere Mächtigkeit vor.

Größer waren die Intervalle der Hautbildung bei 12° C. Während es bei der Pichia-Kultur nach etwa 4 Tagen zur Hautbildung kam, ließ sich bei den beiden anderen erst einige Tage nach diesem Zeitpunkt der Beginn der Deckenbildung feststellen. Die höheren Temperaturen ließen dagegen eine bessere Einheitlichkeit erkennen.

Da es sich hierbei ergeben hatte, daß die beiden höheren Temperaturen im wesentlichen keine Unterschiede der Hautbildung aufweisen, wurden in einer neuen Versuchsanordnung Zwischentemperaturen eingeschoben, so daß Temperaturstufen von 12, 18, 23, 27 und 32° C vorhanden waren. Als Versuchsgefäße dienten kleine Erlenmeyerkolben in der Größe von 150 ccm, die mit 100 ccm verdünntem Most beschickt wurden. Die Verwendung der kleineren Gefäße birgt den Vorteil größerer Einheitlichkeit der Probeentnahme in sich, da der gesamte Inhalt für je eine Analyse gebraucht wird. Auch ist das Analysenergebnis weniger Zufälligkeiten ausgesetzt als bei größeren Flüssigkeitsmengen. Zum Vergleich wurden wiederum die Zeiten bis zum Eintritt der Hautbildung und der geschlossenen Haut bestimmt.

Es konnten folgende Einzelheiten festgestellt werden.

Tabelle 10.
Abhängigkeit der Hautbildung von Kahmhefekulturen von der Temperatur.

	Temperatur				
	12°	18°	23°	27°	32°
a) Mycoderma vini 12					
Beginn der Hautbildung, Tage nach Versuchsbeginn	5,5	3	2,3	2,3	2,3
Zeitpunkt der geschlossenen Haut, Tage nach Versuchsbeginn	8	5,5	4,2	4	4
b) Willia anomala					
Beginn der Hautbildung, Tage nach Versuchsbeginn	5,5	3	2	2	2
Zeitpunkt der geschlossenen Haut, Tage nach Versuchsbeginn	8	4	3,5	3,5	3,5
c) Pichia membranaefaciens					
Beginn der Hautbildung, Tage nach Versuchsbeginn	4	2,5	1,8	1,8	1,8
Zeitpunkt der geschlossenen Haut, Tage nach Versuchsbeginn	7	4	3	3	3

Die höheren Temperaturen weisen wiederum nur geringe Unterschiede auf; dagegen sind diese bei den beiden niedrigen Temperaturen bedeutender.

Auf Grund dieser Feststellung kann also schon von einer Beeinflussung der Hautbildung durch die Temperatur die Rede sein.

Es war nun zu prüfen, wie sich die von der Temperatur abhängige Hautbildung auf den Stickstoffgehalt der Nährlösung äußern würde. Sollten nämlich beide miteinander in Verbindung stehen, so mußte die Stickstoffanalyse Werte ergeben, die deutliche Unterschiede erkennen lassen.

Der Most enthielt bei Versuchsbeginn 555 mg Stickstoff im Liter. Nach 10-wöchiger Versuchsdauer hatten sich bei den anfänglich gewählten drei Temperaturstufen in den Kulturen folgende Veränderungen im Stickstoffgehalt vollzogen:

Tabelle 11.

Stickstoffgehalt in Milligramm in 1000 ccm nach 10 Wochen.

	Temperatur					
	12°	27°	32°	12°	27°	32°
	Mycoderma vini 12			Willia anomala		
Bei Versuchsbeginn	555	555	555	555	555	555
Nach 10 Wochen .	608	681	679	605	680	671
Zuwachs:	53	126	124	50	125	116
	P. membranaefaciens			Torulaspora Rosei		
Bei Versuchsbeginn	555	555	555	555	555	555
Nach 10 Wochen .	619	685	681	564	594	603
Zuwachs:	64	130	126	9	39	48

In sämtlichen Kulturen hatte also eine Zunahme im Stickstoffgehalt stattgefunden. Diese Zunahme ist sowohl bei der verwendeten Hefe, wie auch der jeweiligen Temperatur verschieden groß. Auffällig dabei ist jedoch der geringere Zuwachs in der Torula-Kultur, der vermutlich auf das Fehlen einer Hautbildung zurückzuführen ist. Die hautbildenden Hefen dagegen weisen günstigere Ergebnisse auf. Sie lassen absolut genommen nur geringe Unterschiede unter sich erkennen. Über die zahlenmäßig größte Anreicherung verfügt die Pichia-Kultur mit ihrem Höchstwert bei 27° C und ihrem Tiefstwert bei 12° C. Mit

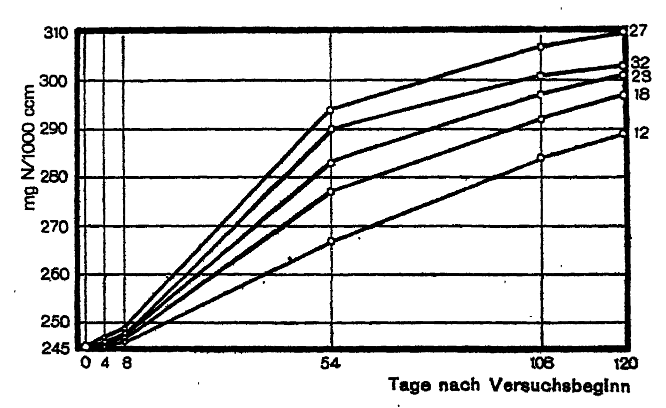


Abb. 3. Die Bindung des elementaren Luftstickstoffs durch Mycoderma vini 12 in Abhängigkeit von der Temperatur während 120 Tagen.

kleiner Differenz folgen dann die der Mycoderma-Kultur mit ihren Höchst- und Mindestgewinnen bei denselben Temperaturen. Aber auch die Werte von Willia anomala sind recht beachtlich. Vergleicht man diese Zahlen miteinander, so fällt auf, daß die größte Stickstoffzunahme bei den einzelnen Hefen keineswegs bei derselben Temperatur zu verzeichnen ist. Das Temperaturoptimum der Stickstoffbindung ist ganz verschieden hoch. Mycoderma vini 12 und Pichia membranaefaciens besitzen ein solches in der Nähe von 27° C, das von Willia anomala liegt ganz ähnlich, dagegen das von Torulaspora Rosei eindeutig höher. Die hiermit aufgezeichneten Unterschiede decken sich vollständig mit denen der Hautbildung. Insbesondere trifft dieses wiederum für die untere Temperatur gegenüber den beiden oberen zu. Die kleineren Unterschiede in der Hautbildung, wie sie sich in den Analysenwerten erkennen lassen, ließen sich infolge des steten Absinkens der Haut in ihrer Feinheit rein äußerlich gar nicht genau feststellen.

Etwas eingehender konnte indessen der Einfluß der Temperatur in der obenerwähnten neuen Versuchsanordnung mit 5 Temperaturstufen: 12, 18, 23, 27 und 32° C herausgestellt werden. Der hierbei verwendete, mit destilliertem Wasser verdünnte und in kleinen Erlenmeyerkolben zu je 100 ccm eingefüllte Traubenmost besaß einen Stickstoffgehalt von 245 mg im Liter. In bestimmten Abständen wurden die Kulturen auf ihren Stickstoffgehalt untersucht. Die Analysenwerte fielen folgendermaßen aus (Tab. 12).

In Übereinstimmung mit den Werten in Tab. 11 konnten in der angeführten Zusammenstellung Zahlen aufgezeichnet werden, die die Abhängigkeit der Stickstoffbindung von der umgebenden Temperatur des Nährmediums bestens erhärten. Bringen wir diese Zahlen miteinander in Vergleich, so ergibt sich für alle 4 Kulturen ein ziemlich einheitliches Bild. Die ersten Tage nach Versuchsbeginn hatte keine Veränderung im Stickstoffgehalt stattgefunden. Die Werte bewegen sich mehr oder weniger in Höhe der Ausgangslösung. Auch die folgenden Zahlen lassen nur eine geringe Zunahme erkennen. Doch kommt hierbei schon eine gewisse Unterschiedlichkeit bei der jeweiligen Temperatur zum Ausdruck. Die Temperatur bestimmt also die Größe der Zunahme. Vergleicht man hierzu den Ablauf der Hautbildung, so ergibt es sich, daß diese Werte mit dem Eintritt der Hautbildung zusammenfallen. Bis zum Zeitpunkt der geschlossenen Haut war die Höhe des Gesamtstickstoffgehaltes noch unverändert. Die Hefe hatte also ihren Stickstoffbedarf zunächst aus der Nährlösung gedeckt. Da die Hautentwicklung je nach der Temperatur mehr oder weniger begünstigt wurde, war es entsprechend verschieden schnell zur geschlossenen Hautdecke gekommen. Erst als die Hefezellen sich in stärkerem Maße vermehrt hatten, trat eine Stickstoffzunahme ein. Die nächsten Analysen lassen daher einen Stickstoffgewinn erkennen. Ihr Gesamtstickstoffgehalt liegt wesentlich höher als der der Kontrolle. Dabei macht sich die Tendenz des Höchstwertes bei den einzelnen Kulturen deutlich bemerkbar. Gering ist der Zuwachs aller Kulturen bei 12° C. Bei solch niedriger Temperatur wird die Tätigkeit der Hefe vermutlich eingeschränkt. Etwas bessere Verhältnisse finden sich bei den höheren Temperaturgraden vor. Mycoderma vini 12 scheint ihr Temperaturoptimum bei höherer Temperatur zu besitzen, und ganz besonders trifft das für Torulaspora Rosei zu. Die geringen Unterschiede der Willia-Kultur lassen darauf schließen, daß diese Hefe weniger anspruchsvoll an die umgebende Temperatur ist. Pichia membranae-

Tabelle 12.
Stickstoffgehalt in Kahmhefekulturen in Milligramm auf 1000 ccm bei verschieden langer Versuchsdauer.

	Temperatur				
	12°	18°	23°	27°	32°
a) Mycoderma vini 12					
Bei Versuchsbeginn	245	245	245	245	245
Nach 4 Tagen	245	246	246	247	246
„ 8 Tagen	246	247	248	249	248
„ 54 Tagen	267	277	283	294	290
„ 108 Tagen	284	292	297	307	301
„ 120 Tagen	289	297	301	310	303
b) Willia anomala					
Bei Versuchsbeginn	245	245	245	245	245
Nach 4 Tagen	245	246	246	246	246
„ 8 Tagen	246	248	248	249	248
„ 54 Tagen	270	277	289	293	291
„ 108 Tagen	284	293	300	304	302
„ 120 Tagen	288	297	303	307	304
c) Pichia membranaefaciens					
Bei Versuchsbeginn	245	245	245	245	245
Nach 4 Tagen	245	245	245	245	245
„ 6 Tagen	245	246	246	246	246
„ 11 Tagen	248	249	252	251	250
„ 16 Tagen	251	254	259	257	256
„ 40 Tagen	270	277	289	285	280
„ 70 Tagen	275	285	298	296	290
d) Torulaspora Rosei					
Bei Versuchsbeginn	245	245	245	245	245
Nach 4 Tagen	245	245	245	245	245
„ 8 Tagen	245	246	247	247	247
„ 54 Tagen	263	274	279	284	288
„ 108 Tagen	279	290	294	298	300
„ 120 Tagen	281	292	296	300	301

faciens besitzt dagegen ihre höchsten Stickstoffgewinne bei 23° C. Der bei dieser geringen Temperatur erreichte Höchstwert schließt zudem vollständig die Möglichkeit aus, daß die hohen Werte infolge der bei höheren Temperaturen auftretenden starken Verdunstung und der dadurch bedingten Eindickung zustande gekommen wären. Es leuchtet ohne weiteres ein, daß dieser Fehler durch die bei dieser niedrigen Temperatur und bei der kleinen Oberfläche auftretenden Verdunstung, selbst wenn er nicht berücksichtigt worden wäre, äußerst gering wäre. Aus diesen Versuchen geht übereinstimmend hervor, daß die Hefen bis zu 54 Tagen nach Versuchsbeginn den Höhepunkt ihrer Entwicklung erreicht hatten. Die zeitliche Veränderung der Stickstoffbindung vollzog sich, wie die nebenstehende Zeichnung (Abb. 3) veranschaulicht, in ziemlich gesetzmäßiger Weise. Recht eindeutig findet sich hierbei die unterschiedliche Höhe der Stickstoffbindung wiedergegeben. Beinahe linear, mit nur geringem Anstieg, verlaufen die Kurven aller Kulturen bei 12° C. Etwas anders gegliedert sind die Kurven bei den übrigen Temperaturen. Alle leiten mit nur leichter Steigung ein, um zusehends steiler zu werden, dann aber klingen sie wieder stark ab, um mehr gleichbleibende Werte anzunehmen. Einen etwas abweichenden Verlauf hiervon nimmt die Kurve

aller Hefen bei 32° C. Bei längerer Versuchsdauer kommt es in den Kulturen bei dieser Temperatur nur noch zu ganz geringer N-Zunahme. Dieser eigenartige und zu den anderen Kurven im Gegensatz stehende Kurvenverlauf findet seine Erklärung in der vermutlich bei höheren Temperaturen eintretenden Bildung von flüchtigen Stickstoffverbindungen durch die Hefe.

Berücksichtigt man, daß die Versuche in Gefäßen mit recht kleiner Oberfläche zur Durchführung kamen und der Einfluß der Oberfläche (vgl. auch den nächsten Abschnitt!) auf die Stickstoffbindung als ein günstiger bezeichnet werden kann, so gewinnen die mitgeteilten Ergebnisse noch gewaltig in ihrer Bedeutung. Die jeweilige Temperatur der Umgebung ist also von entscheidender Bedeutung für die Hautbildung und damit auch für die Stickstoffbindung durch hautbildende Hefen.

Meine nächste Aufgabe sah ich nun darin, die vermutlich bei höheren Temperaturen entstehenden flüchtigen Stickstoffverbindungen aufzufangen, um einmal ihre Anwesenheit und dann auch ihre Menge bestimmen zu können. Der Nachweis erfolgte:

1. Qualitativ durch Diphenylamin-Schwefelsäure und durch Neßlersches Reagens.
2. Quantitativ durch konzentrierte Schwefelsäure.

Die Versuchsanordnung war dabei entsprechend den bisherigen Versuchen gewählt worden. Die Kulturen wurden in 500-ccm-Rollflaschen auf 400 ccm verdünntem Most bei 32° C im Thermostaten herangezogen. Um die flüchtigen Stoffe auffangen zu können, wurden die Kulturen mit einer Vorlage verbunden. In je einem Versuch enthielt die Vorlage Diphenylaminschwefelsäure (0,5 g Diphenyl, 100 ccm conc. Schwefelsäure, 20 ccm dest. Wasser) zum Nachweis von Stickoxyden, bei je einer zweiten Versuchsflasche befand sich in der Vorlage konzentrierte Schwefelsäure zum quantitativen Nachweis und je eine dritte war mit einer Vorlage mit dest. Wasser verbunden, das später mit Neßlerschem Reagens behandelt wurde. Vor die Kulturgefäße schaltete ich Waschflaschen mit reinem destillierten Wasser, Kalilauge bzw. konzentrierter Schwefelsäure. Hinter die Kulturgefäße schloß ich die erwähnte Vorlage und eine Wasserstrahlpumpe an, mit welcher durch die ganzen Versuchsgefäße ein Luftstrom hindurchgesaugt wurde, so daß Gewißheit bestand, daß die Stickstoffgase durch die Vorlage transportiert wurden.

Die Kulturen wiesen gute Entwicklung auf. Es zeigte sich aber bald, daß infolge Fehlens von Absperrvorrichtungen Gefahr bestand, daß durch den in den Kulturgefäßen entstandenen Unterdruck ein Rückfließen der vorgelegten Reagensflüssigkeiten eintreten könnte. Der Versuch mußte daher nach 10-tägiger Versuchsdauer abgebrochen werden. Immerhin ließen sich trotzdem schon bestimmte Schlüsse ziehen.

Mit Neßlerschem Reagens trat eine deutliche braune Färbung ein, so daß auf die Gegenwart geringer Mengen Ammoniak geschlossen werden konnte. Nicht ganz so überzeugend gelang der Nachweis mit der Diphenyl-Schwefelsäure. Gegenüber einer Kontrollösung mit bekanntem Stickstoffgehalt zeigte die Flüssigkeit eine nur leichte Blaufärbung. Es konnten infolgedessen nur Spuren flüchtiger Stickstoffanteile von der Hefekultur in die Vorlage gelangt sein. Einwandfreier aber gestaltete sich der quantitative Nachweis mit reiner Schwefelsäure. In 50 ccm vorgelegter Schwefelsäure ließen sich 1,9 mg Stickstoff nachweisen.

Nachdem aber in einem neuen Versuch mittels Quetschhähnen der Luftstrom besser reguliert und ein Zurückfließen verhindert werden konnte, konnten stichhaltigere Ergebnisse erzielt werden. In 2 monatiger Versuchsdauer ließen sich in der vorgelegten Schwefelsäure 8,2 mg Stickstoff nachweisen. Diese Feststellung berechtigt daher zu der Schlußfolgerung, daß

bei höheren Temperaturen nach einiger Zeit flüchtige Stickstoffverbindungen erzeugt werden, daher bringen die späteren Analysen der Gesamtstickstoffe evtl. niedrigere Werte als die ersten Analysen.

3. Der Einfluß der Oberfläche auf die Assimilation des elementaren Luftstickstoffs.

Die Bildung von Kahmhäuten auf Most und Wein läßt einen Zusammenhang mit der atmosphärischen Luft erkennen. Die Kahmhefen sind als sehr sauerstoffbedürftige Mikroorganismen bekannt. Durch den Ausschluß der Luft wird ihre Lebenstätigkeit auf ein Minimum beschränkt, wenn nicht ganz unterbunden. Andererseits aber sind die Verhältnisse für ihre Entfaltung um so günstiger, je ungehinderter die Außenluft zu solchen Kulturen gelangen kann. Je größer daher die der Luft dargebotene Flüssigkeitsoberfläche ist, um so stärkere Hautdecken können gebildet werden. Mit der frei zutretenden Außenluft stehen ihnen Sauerstoff und Stickstoff reichlich zur Verfügung. Ob aber auch hier die größere Oberfläche einen günstigen Einfluß auf die Höhe der Stickstoffestlegung im Moste besitzt, kann nicht ohne weiteres angenommen werden. Dies zu prüfen war das Ziel mehrerer Versuchsreihen mit verschieden groß gewählten Flüssigkeitsoberflächen. Da die Frage nur unter einheitlich gleichen Verhältnissen geprüft werden konnte, so mußte überall dieselbe Mostmenge und dieselbe Temperatur gewählt werden. Es handelte sich jeweils um je 400 ccm verdünnten Traubenmost und eine Temperatur von 27° C. Als Hefen dienten überall die bisher verwendeten 4 Arten: Mycoderma vini 12, Willia anomala, Pichia membranaefaciens und Torulaspora Rosei.

Versuchsreihe 1.

In Versuchsreihe 1 wurden zwei verschieden große Gefäße gewählt. In dem einen bot die Kulturflüssigkeit der Luft 47,8 qcm und in dem anderen 105 qcm Oberfläche dar. Die Hautbildung war unter den gewählten Verhältnissen auf beiden Oberflächen etwa dieselbe. Feststellbare Unterschiede konnte daher nur noch die chemische Analyse der Stickstoffbindung erbringen, deren Ergebnisse in folgender Tabelle aufgezeichnet sind:

Tabelle 13.
Stickstoffgehalt in Milligramm je 1000 ccm nach 10 und 14 Wochen Versuchsdauer bei verschieden großer Oberfläche und 27° C.

Hefe:	Mycoderma vini 12		Willia anomala		Pichia membranaefac.		Torulaspora Rosei	
Oberfläche (qcm)	47,8	105	47,8	105	47,8	105	47,8	105
Ausgangswert	405,7	405,7	405,7	405,7	405,7	405,7	405,7	405,7
Nach 10 Wochen	474,3	494,5	468,2	488,8	477,9	503,1	467,8	486,9
Gewinn:	68,6	88,8	62,5	83,1	72,2	97,4	62,1	81,2
	16,9%	21,9%	15,4%	20,5%	17,8%	24,0%	15,3%	20,0%
Nach 14 Wochen	482,8	499,4	477,1	494,1	486,4	507,1	476,7	492,9
Gewinn:	77,1	93,7	71,4	88,4	80,7	101,4	71,0	87,2
	19,0%	23,1%	17,6%	21,8%	19,9%	25,0%	17,6%	21,5%

Aus der Tabelle (13) ist folgendes zu ersehen: Der Gesamtstickstoffgehalt hat innerhalb der Versuchsdauer eine Zunahme erfahren. Er ist jedoch nicht nur im gesamten angestiegen, sondern auch mit der Größe der Oberfläche verschieden groß. Die Zunahme ist bei der größeren Oberfläche schneller erfolgt. Innerhalb der ersten 10 Wochen ist der Stickstoffgehalt in der Mycodermakultur bei der kleinen Oberfläche um 68,6 mg im Liter, das sind 16,9%, gestiegen, bei der großen Oberfläche von 105 qcm betrug die Zunahme noch 22,2 mg mehr, also im gesamten 88,8 mg oder 21,9%. Noch höher liegen die Stickstoffwerte der zweiten Analyse (nach 4 Wochen). Der Zuwachs bleibt aber prozentual gegenüber denen der ersten Analyse zurück. Während er innerhalb der ersten 10 Wochen 16,9% bei der kleinen Oberfläche und 21,9% bei der großen Oberfläche betrug, nahm er in den nächsten 4 Wochen nur noch um 2,1 bzw. 1,2% zu. Ausgeprägter sind diese Unterschiede noch bei Pichia membranaefaciens, die auch innerhalb dieses Versuches wieder die höchsten Stickstoffgewinne aufweist.

Versuchsreihe 2.

In nachstehender Tabelle (14) sind die Ergebnisse einer Versuchsreihe dargestellt, die 6 Monate später auf einem stärker verdünnten Traubenmost mit Oberflächen von 105 qcm und 298,4 qcm zur Durchführung kam. Nach 26-tägiger Versuchsdauer ließen die Kulturen jedoch nur geringe Stickstoffgewinne feststellen. Aus Werten der nächsten Analyse, die nach weiteren 14 Tagen vorgenommen wurde, geht eine größere Zunahme hervor.

Tabelle 14.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm nach 26- und 40-tägiger Versuchsdauer bei verschieden großer Oberfläche und 27° C.

Hefe:	Mycoderma vini 12		Willia anomala		Pichia membranaefac.	
Oberfläche (qcm)	105	298,4	105	298,4	105	298,4
Ausgangswert	245	245	245	245	245	245
Nach 26 Tagen	257,1	264,0	254,3	259,7	260,1	279,0
Gewinn:	12,1	19,0	9,3	14,7	15,1	24,0
	4,94%	7,75%	3,79%	6,0%	6,16%	9,79%
Nach 40 Tagen	292,8	309,0	288,7	306,3	296,8	312,1
Gewinn:	47,8	64,0	43,7	61,3	51,8	67,1
	19,5%	25,5%	17,8%	25,0%	21,1%	27,4%

Man sieht also, daß die Bindung des elementaren Luftstickstoffs in den Kulturen während der ersten Wochen klein war und erst mit fortschreitender Hautentwicklung in stärkerem Maße einsetzte. Die Stickstoffzunahmen nach 40-tägiger Dauer entsprechen ungefähr den in Tab. 13 mitgeteilten. Auch hier zeigt sich wieder, daß die Stickstoffbindung in Kahmhefekulturen von der Größe der Flüssigkeitsoberfläche entscheidend beeinflußt wird.

Versuchsreihe 3.

Zur Nachprüfung der bisherigen Ergebnisse über den Einfluß der Oberfläche auf die Stickstoffbindung setzte ich eine neue Versuchsreihe an. Ich

wählte dazu Gefäße, in denen sich folgende Flüssigkeitsoberflächen ergaben: 10,3 qcm, 47,8 qcm und 81,2 qcm. Ein Unterschied im Beginn der Hautbildung bei den verschiedenen Oberflächen war nicht zu verzeichnen. Es traten lediglich wieder die gattungsmäßig bedingten Verschiedenheiten in Erscheinung. Bei *Pichia membranaefaciens* war die Hautbildung schon nach 11½ Std. festzustellen, bei *Willia anomala* nach 17½ Std. und bei *Mycoderma vini* 12 nach 20 Std. Die weitere Beobachtung ließ nur erkennen, daß sich die Haut bei der kleinen Oberfläche zuerst schloß und die der großen Oberfläche hierzu entsprechend längere Zeit benötigte.

Weiteren Aufschluß konnte wiederum nur die chemische Analyse erbringen. Nach 18-wöchiger Versuchsdauer konnten die Kulturen auf ihren Stickstoffgehalt untersucht werden. Nach weiteren 4 Wochen folgte eine zweite Analyse. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind folgende:

Tabelle 15.

Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm nach 18- und 22-wöchiger Versuchsdauer bei verschieden großer Oberfläche und 27° C.

Hefe:	Mycoderma vini 12			Willia anomala		
Oberfläche (qcm) . . .	10,3	47,8	81,2	10,3	47,2	81,2
Ausgangswert	437,2	437,2	437,2	437,2	437,2	437,2
Nach 18 Wochen . . .	476,28	518,88	528,32	554,55	490,28	504,73
Gewinn:	39,08	81,68	91,12	17,35	53,08	67,53
	9,12%	18,45%	20,58%	4,38%	11,72%	15,25%
Nach 22 Wochen . . .	491,8	529,9	533,1	468,7	498,1	512,3
Gewinn:	54,6	92,7	95,9	31,5	60,9	75,1
	12,48%	20,94%	21,66%	7,12%	13,76%	16,96%
Hefe:	Pichia membranaefac.			Torulaspora Rosei		
Oberfläche (qcm) . . .	10,3	47,8	81,2	10,3	47,8	81,2
Ausgangswert	437,2	437,2	437,2	437,2	437,2	437,2
Nach 18 Wochen . . .	468,27	498,11	530,33	480,04	493,15	502,65
Gewinn:	31,07	64,91	93,13	42,84	55,95	65,45
	7,02%	14,63%	22,54%	9,68%	12,61%	14,79%
Nach 22 Wochen . . .	482,7	512,1	542,9	492,3	504,4	512,3
Gewinn:	45,5	74,9	104,7	55,1	67,2	75,1
	10,28%	16,92%	23,65%	12,45%	15,18%	16,97%

Das Ergebnis dieser 3 Versuchsreihen ist also folgendes. *Die Stickstoffbindung durch hautbildende Hefen in Traubenmosten läßt eine starke Abhängigkeit von der Oberflächengestaltung erkennen. Je größer die Oberfläche gewählt werden kann, desto günstiger sind die Bedingungen für die Stickstoffbindung.* Diese verläuft die ersten Wochen der Versuchsdauer recht schleppend und wird erst nach dieser Zeit stärker. In ihrem Ablauf wird sie von der Größe der Oberfläche entscheidend beeinflußt.

4. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Assimilation des elementaren Luftstickstoffs.

E. J. Fulmer hat 1925 in Versuchen mit Saccharomyces cerevisiae nachgewiesen, daß die Bindung des elementaren Stickstoffs durch die Hefe in Melasse eine Funktion der Wasserstoffionenkonzentration ist.

Da nun die p_H-Frage durch die Art meiner Nährlösung, nämlich Traubenmost, für den Ausfall meiner Versuche von nicht geringer Bedeutung sein kann, habe ich zur Klärung dieser Verhältnisse einige Versuchsreihen mit Hefen auf Mosten durchgeführt, bei welchen die Wasserstoffionenkonzentration durch verschieden hohe Zusätze von Kalilauge verändert worden war.

Die dadurch erreichten Werte betrugen: p_H 3,8 5,0, 6,0, 6,6, 7,0 und 7,5. Diese Zahlen dürfen jedoch nicht als endgültige Ausgangswerte der Nährlösungen angesehen werden; denn es zeigte sich, daß die Reaktion durch die Sterilisation im Dampftopf eine Verschiebung nach der alkalischen Seite hin erfuhr. Die Werte waren nach der Sterilisation auf p_H 3,9, 5,1, 6,4, 7,1 7,8 und 8,4 gestiegen. Daher dürfen erst diese Größen als Ausgangswerte der Wasserstoffionenkonzentration bei Versuchsbeginn zugrunde gelegt werden. Die Bestimmung der p_H-Zahl wurde mit Lyphan-Papierstreifen der Fa. Gerhard Kloz, Leipzig, ausgeführt. Diese Methode war für vorliegende Zwecke vollständig ausreichend. Die angeführten Werte sind Durchschnittswerte aus je 2 Bestimmungen. Als Versuchsgefäße fanden kleine Erlenmeyerkolben Verwendung, die mit je 100 ccm verdünntem Most beschickt und nach der Beimpfung mit Mycoderma vini 12, Willia anomala, Pichia membranaefaciens und Torulaspora Rosei bei 27° C im Thermostaten untergebracht wurden. Beobachtet wurden vor allem die Hautanlage und ihre weitere Entwicklung.

Zwei Tage nach Versuchsbeginn fanden sich folgende Verhältnisse vor:

Tabelle 16.
Hautentwicklung bei verschiedener p_H-Zahl und 27° C.

Hefe	p_H-Zahl der Nährlösung		
	3,9	5,1	6,4
Mycoderma vini 12. .	Haut geschlossen, zart	Haut zart, teilweise abgesunken	Haut zart, noch nicht ganz geschlossen
Willia anomala. . . .	wie bei Mycoderma vini 12	Haut zart, geschlossen	Haut zart, erste Hälfte geschlossen
Pichia membranaefac.	wie bei Mycoderma vini 12	wie bei Mycoderma vini 12	wie bei Mycoderma vini 12
Torulaspora Rosei. .	Bodenhefe	Bodenhefe	Bodenhefe
	7,1	7,8	8,4
Mycoderma vini 12. .	Haut erst zur Hälfte geschlos.	Größere Hautinseln	Einzelne Hautinseln
Willia anomala . . .	Größere Hautinseln	Größere Hautinseln	Einzelne Hautinseln
Pichia membranaefac.	wie bei Mycoderma vini 12	wie bei Mycoderma vini 12	wie bei Mycoderma vini 12
Torulaspora Rosei. .	Bodenhefe	Bodenhefe	Bodenhefe

Die Hautbildung zeigte also in den ersten 2 Tagen deutlich feststellbare Unterschiede bei der jeweiligen p_H-Zahl. Am schnellsten erfolgte sie bei

p_H 3,9, im Most ohne Kalilaugezusatz. Nach weiteren zwei Tagen fanden sich aber auf allen Kulturen geschlossene Hautdecken vor. Kleinere Unterschiede ließen sich im weiteren nur bei den Mycoderma-Kulturen feststellen.

Nach 4 wöchiger Versuchsdauer wurde der Versuch zur Analysierung abgebrochen. Die Hefen hatten durch saure Stoffwechselprodukte — für die Kahmhefen ist die Erzeugung flüchtiger Säuren charakteristisch — die p_H-Verhältnisse stark verändert, und zwar wurden die p_H-Zahlen 3,5, 4,5, 5,3, 5,8, 6,2 und 6,6 gemessen. Die stärkste Veränderung hatte sich also bei den dem alkalischen Gebiet am nächsten liegenden Werten vollzogen. Die Bestimmung des Stickstoffgehaltes ergab nachstehende Ergebnisse:

Tabelle 17.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm nach 4-wöchiger Versuchsdauer bei verschiedener p_H-Zahl in einem Most von 524 mg N/l.

Hefe	p_H-Zahl der Nährlösung					
	3,9	5,1	6,4	7,1	7,8	8,4
Mycoderma vini 12	654	661	671	647	691	707
Willia anomala	632	642	659	635	687	700
Pichia membranaefaciens .	670	684	695	670	698	712
Torulaspora Rosei	612	618	631	629	634	648

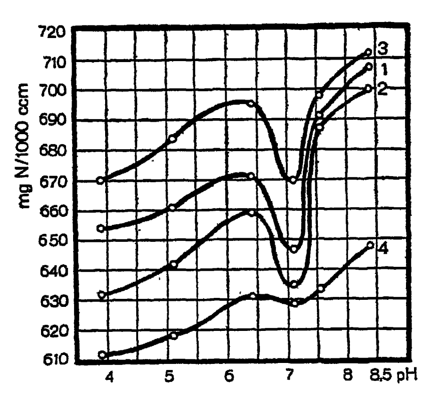


Abb. 4. Die Bindung des elementaren Luftstickstoffs in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration in Traubenmost durch (1) Mycoderma vini 12, (2) Willia anomala, (3) Pichia membranaefaciens, (4) Torulaspora Rosei während 28 Tagen.

Zum besseren Überblick habe ich diese Ergebnisse in Abb. 4 graphisch dargestellt. Unter den gewählten Versuchsbedingungen lassen die Kurven der Kahmhefen eine recht eindeutige Abhängigkeit der Bindung des elementaren Luftstickstoffs von der jeweiligen Wasserstoffionenkonzentration erkennen. Sie verfügen über zwei Maximalwerte, welche bei p_H 6,4 und 8,4 liegen. Andererseits weisen sie bei p_H 3,9 und 7,0 Minima auf. Das würde also bedeuten, daß der günstigste Wirkungsbereich für die Stickstoffbindung durch die hautbildenden Hefen im alkalischen Gebiet liegt. Es zeigt sich weiterhin, daß die Stickstoffbindung durch die fortschreitende Säurevermehrung eine Hemmung erfährt. Man kommt damit auch zur Feststellung, daß die geringeren N-Zunahmen in älteren Kulturen nicht allein im Mangel an leicht assimilierbaren Nährstoffen ihre Ursachen hatten, sondern gleichzeitig auch in den stets ungünstiger werdenden Reaktionsverhältnissen der Nährlösung. Ein anderes Bild ergibt die Torula-Kultur. Diese Hefe scheint weniger anspruchsvoll an die jeweils

vorherrschende Wasserstoffionenkonzentration zu sein. Zwar verfügt auch sie über einen Höchstwert im alkalischen Gebiet, der Verlauf der Kurve ist jedoch flacher und einheitlicher. Die bei verschiedenen p_H-Zahlen gefundenen N-Werte zeigen unter sich viel kleinere Unterschiede.

Von einer deutlichen spezifischen Beeinflussung der Stickstoffbindung für diese Torula-Art durch die Reaktion der Nährlösung kann daher weniger die Rede sein.

Zusammenfassend läßt sich folgendes sagen: Die bereits von Fulmer bei Saccharomyces cerevisiae festgestellte Abhängigkeit der Luftstickstoffbindung von der Wasserstoffionenkonzentration trifft auch bei den von mir studierten 4 Hefegattungen zu[1]). Das p_H der Nährlösung übt auf die Luftstickstoffbindung der Gattungen Mycoderma, Willia und Pichia einen entscheidenden Einfluß aus. Bei der Gattung Torula ist dieser weniger deutlich wahrnehmbar. Ihr günstigster Wirkungsbereich liegt im alkalischen Gebiet.

5. Der Einfluß der Stickstoffverbindungen der Luft auf die Höhe der Assimilation des elementaren Luftstickstoffs.

Da durch die bisher mitgeteilten Versuchsergebnisse gezeigt werden konnte, daß es durch die Tätigkeit der hautbildenden Hefen in Traubenmosten zu einer Stickstoffanreicherung kommt, mußte in weiteren Versuchen nachgeprüft werden, inwieweit hierbei die als Verunreinigungen in der Luft vorhandenen Stickstoffverbindungen, wie z. B. Ammoniak, Stickoxyde usw. beteiligt sind. Zur Klärung dieser Frage wurde die Versuchsanordnung so eingerichtet, daß zwei Parallelreihen von Kulturen in Flaschen vorhanden waren, von denen die eine, wie seither durch Wattebausch, die andere mit einem mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllten Güraufsatz verschlossen war.

Versuch 1.

Die Versuchsgefäße, 500-ccm-Rollflaschen wurden mit verdünntem, 245 mg Stickstoff im Liter enthaltendem Most gefüllt und mit Willia anomala oder Saccharomyces cerevisiae beimpft. Die Hautbildung der Kulturen in Gefäßen mit Gäraufsatz erfolgte nicht ganz so lebhaft wie ohne Gäraufsatz. Diese leichte Entwicklungshemmung wurde auch weiterhin beobachtet.

Die Analyse ließ nach 5 Wochen folgende Verhältnisse erkennen:

Stickstoffgehalt in Milligramm in 1000 ccm bei Watteverschluß bzw. Güraufsatz.

Hefe	Mit Watte		Mit Gäraufsatz		Mehrgewinn der Wattebauschkultur
	Gesamtgehalt	Gewinn	Gesamtgehalt	Gewinn	
Willia anomala . .	289,0	44,0	264,0	19,0	23,0
Sacch. cerevisiae .	297,4	52,4	269,0	24,0	28,4

[1]) Da die Kurven aller vier untersuchten Hefegattungen absolut die gleiche Tendenz zeigen, wurde auf eine Wiederholung verzichtet.

Innerhalb der 5-wöchigen Versuchsdauer waren einige Unterschiede zu verzeichnen. Willia anomala brachte es mit Wattebausch zu einem Gewinn von 44 mg Stickstoff im Liter, bei Gäraufsatz jedoch nur zu 19 mg Stickstoffgewinn, so daß die Kultur mit Wattebausch mit 23 mg im Liter besser abgeschnitten hat. Etwas größer ist dieser Unterschied bei Saccharomyces cerevisiae. Hier beträgt die Differenz 28,4 mg zugunsten des Wattebauschverschlusses.

Berücksichtigt man, daß sich bei den mit Gäraufsatz verschlossenen Flaschen über der Kultur nur ein Luftraum von etwa 100 ccm befand, so ist dieses Ergebnis wenig erstaunlich zu nennen. 100 ccm Stickstoff besitzen ein Gewicht von 0,125 g, 80 ccm also etwa 100 mg. Theoretisch müßte es daher in diesen Kulturen zu einer Stickstoffanreicherung in Höhe dieses Wertes kommen können. Praktisch jedoch wird diese Grenze wohl nie erreicht werden, da mit der Zeit in diesem Raum ein spürbarer Unterdruck entstehen muß und infolgedessen der ganze Stickstoffvorrat gar nicht voll ausgenutzt werden kann. Andererseits aber befinden sich in diesem 100 ccm großen Luftraum nur geringe Spuren an Stickstoffverbindungen vor, durch die es allein ebenfalls nicht zu einer Anreicherung von mehreren Milligramm Stickstoff innerhalb der Nährlösung kommen könnte[1]). Schon dieser Vorversuch läßt deutlich erkennen, daß die ermittelten Stickstoffgewinne nicht anders als durch Assimilation des elementaren Stickstoffs entstanden sein müssen.

Versuch 2.

Eine Erhärtung erfuhren diese Ergebnisse 7 Monate später in entsprechenden Versuchen mit weiteren Pilzen.

Als Versuchsgefäße dienten hierbei 2 Liter fassende, besonders breite Erlenmeyerkolben, die bei 1 Liter Füllung eine Flüssigkeitsoberfläche von 298 qcm entstehen ließen. Sie wurden mit 1000 ccm verdünntem Most und 455 mg Stickstoff im Liter gefüllt. Der Luftraum über der Flüssigkeitsoberfläche betrug 1 Liter. Die Kulturgefäße waren mit Gärspunden verschlossen, welche mit konzentrierter Schwefelsäure als Sperrflüssigkeit beschickt waren. In der Hautbildung traten dieselben Verzögerungen wie in Versuch 1 auf.

15 Wochen später wiesen die Kulturen folgenden Stickstoffgehalt auf:

Tabelle 18.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm bei 455 mg im Liter und 27° C.

Hefe	Mit Watte		Mit Gäraufsatz		Mehrgewinn der Wattebauschkultur
	Gesamtgehalt	Gewinn	Gesamtgehalt	Gewinn	
Schizosacch. Pombe	589,0	134,0	579,0	124,0	10,0
Saccharomycodes.	574,0	119,0	545,0	90,0	29,0
Jerezhefe 1933 . . .	580,0	125,0	547,0	92,0	33,0
Steinberg 1892 . . .	572,0	117,0	551,0	96,0	21,0

Auch die Ergebnisse des zweiten Versuches sprechen deutlich dafür, daß die erzielten Stickstoffgewinne nicht aus stick-

[1]) Nach Untersuchungen von Levy (Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. 8: Wasser und Luft, S. 521) sind in 100 cbm Luft 1,4—4,1 mg und nach F. Fodor 2,5 bis 5,6 mg Ammoniak enthalten. Nimmt man den Höchstwert, so entspräche das einem Ammoniakgehalt von 0,056 Gamma pro Liter.

stoffhaltigen Luftverunreinigungen, sondern nur aus elementarem Stickstoff stammen; denn in dem mit konzentrierter Schwefelsäure abgesperrten Luftraum konnten unmöglich so viel Stickoxyde oder Ammoniak enthalten gewesen sein, die Stickstoffmengen von 90—124 mg entsprechen. Die Ergebnisse dieses Versuches bestätigen und festigen diejenigen des vorigen Versuches.

Versuch 3.

In den folgenden Versuchsreihen sollten die Hefekulturen einerseits mit absolut stickoxyd- und ammoniakfreier Luft behandelt und andererseits der Einfluß einer öfteren mechanischen Durchlüftung auf die Luftstickstoffassimilation geprüft werden. Zu diesem Zweck wurden vier 500-ccm-Rollflaschen mit je 400 ccm verdünntem Most beschickt und zwei davon mit Willia anomala und die restlichen zwei mit Saccharomyces cerevisiae beimpft. Sodann wurde je eine Flasche der gleichen Hefeart einer zusätzlichen Durchlüftung unterzogen, während die zweite unbelüftet blieb. Als Abschluß sowohl der belüfteten wie auch der nicht durchlüfteten Kulturen diente eine Röhre, die mit in konzentrierter Schwefelsäure getränktem granulierten Bimstein angefüllt war und die Aufgabe hatte, die zu den Kulturen gelangende Luft vorher einer Reinigung, insbesondere von Stickstoffverbindungen der Luft zu unterziehen. Jeder zweite Kolben stand mit der Wasserstrahlpumpe in Verbindung, mit welcher in regelmäßigen Abständen Luft durchgesaugt wurde. Die ganze Versuchsanordnung war folgendermaßen: Durch einen mit 2 Bohrungen versehenen Gummistopfen führten zwei Glasröhren, von denen die eine, welche die beschriebene Röhre vorgeschaltet hatte, der Luftzufuhr diente, die andere zum Durchsaugen der Luft vorgesehen war. Zwischen Wattebausch und Bimstein befand sich als Trennungs- und Schutzschicht Glaswolle.

Bei den folgenden Analysen ließen sich bemerkenswerte Unterschiede aufzeichnen. Der Ausgangsstickstoffgehalt betrug bei Versuchsbeginn 183 mg im Liter.

Tabelle 19.
Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm bei 183 mg Ausgangswert bei 7-, 9- und 11-wöchiger Versuchsdauer.

	Nach 7 Wochen		Nach 9 Wochen		Nach 11 Wochen	
	Gesamtgehalt	Gewinn	Gesamtgehalt	Gewinn	Gesamtgehalt	Gewinn
a) Willia anomala						
Nicht durchlüftet . . .	192,5	9,5	219,3	36,3	248,1	65,1
Durchlüftet	224,0	41,0	247,7	64,7	275,8	92,8
Mehrgewinn bei Durchlüftung	31,5		28,4		27,7	
b) Saccharomyces cerevisiae						
Nicht durchlüftet . . .	221,7	38,7	238,0	55,0	254,1	71,1
Durchlüftet	235,7	41,7	253,3	70,3	269,7	86,7
Mehrgewinn bei Durchlüftung	14,0		15,3		15,6	

Der Stickstoffgewinn während der 11-wöchigen Versuchsdauer betrug bei Willia anomala in der nicht durchlüfteten Kultur nur 65,1 mg

im Liter, dagegen der der durchlüfteten Kultur 92,8 mg. Bei Gegenüberstellung der Ergebnisse ist also ein Einfluß der Durchlüftung deutlich erkennbar. Besonders günstig wirkte die Lüftung in den ersten 7 Wochen der Versuchsdauer. Von da ab wird die Differenz zwischen den beiden Versuchsreihen kleiner. Einen hiervon etwas abweichenden Verlauf zeigen die beiden Versuchsreihen mit Saccharomyces cerevisiae. Im großen und ganzen gesehen spricht jedoch auch dieses Ergebnis zugunsten der belüfteten Kultur. Gegenüber der Willia-Kultur lassen diese beiden Kulturen eine Abweichung erkennen. Während dort der Unterschied von Analyse zu Analyse kleiner wird, tritt hier der umgekehrte Fall ein. Im ersten Falle handelt es sich aber um eine typische Kahmhefe mit starker Hautbildung. Die Kultur mit Saccharomyces cerevisiae bildet dagegen keine Haut.

Abschließend kann jedenfalls festgestellt werden, daß ein günstiger Einfluß auf die Stickstoffbindung durch die Durchlüftung in Erscheinung tritt. Diese günstige Wirkung der Durchlüftung hat ihre zwei Ursachen. Einmal führt der durchgesaugte Luftstrom gleichzeitig die sich im überstehenden Luftraum ansammelnden Stoffwechselprodukte der Hefe ab, und andererseits wirkt er durch die Zufuhr des Sauerstoffs und des Stickstoffs anregend auf das Vermehrungsvermögen der Hefen ein. Damit erklärt sich auch der größere Wert der durchlüfteten Kulturen gegenüber den nicht durchlüfteten. Merkwürdig ist indessen der geringe Wert der unbelüfteten Kultur innerhalb der ersten 7 Wochen mit nur 9,5 mg im Liter. Scheinbar konnte die Luft nur schwer durch die vorgeschaltete Röhre gelangen. Beachtenswert aber ist der Gewinn im weiteren Verlauf des Versuches und vor allem die Tatsache, daß es überhaupt zu einer Stickstoffanreicherung innerhalb der Kulturen kam.

In den drei zuletzt behandelten Versuchen konnte vor allem wiederum nachgewiesen werden, daß selbst bei völliger Ausschaltung der in der Luft vorhandenen stickstoffhaltigen Verunreinigungen die gleichen Größenordnungen an Stickstoffgewinnen in den Kulturen nachzuweisen sind, wie wenn ungereinigte Luft Zutritt hat.

6. Die Verteilung des Stickstoffs in der Nährlösung und ihr Verbrauch durch den Pilz.

Nachdem sich in den bisherigen Versuchen ein günstiger Einfluß der Nährstoffe auf die Stickstoffbindung durch Hefen ergeben hatte, schien es nicht uninteressant, zu wissen, welche Rolle jeweils dem in der Nährlösung vorhandenen Stickstoff zukommt. Es war zu erwarten, daß die Kahmhefen bei ihrer ersten Entwicklung neben den anderen Nährstoffen auch auf die in der Nährlösung zur Verfügung stehenden Stickstoffverbindungen zurückgreifen würden, wodurch die der Haut am nächsten liegende Flüssigkeitsschicht an Stickstoff verarmen müßte. Ob dann weiterhin ein Nachfließen aus den nächstfolgenden Schichten erfolgen würde, war nicht vorauszusehen. Diese Verhältnisse zu klären, war der Sinn einer besonderen Versuchsanordnung.

Es kamen hierbei hohe Standzylinder von 40 cm Höhe und 4,4 cm lichter Weite zur Anwendung. Sie wurden mit 600 ccm verdünntem Traubenmost beschickt und mit Pichia membranaefaciens beimpft. Nach 10-wöchiger Versuchsdauer folgten die ersten Analysen. Die Probeentnahme wurde zu je 50 ccm von oben nach unten, was einer Flüssigkeitshöhe von je 3,3 cm entsprach, mit einer eigens dafür konstruierten Saugröhre vorgenommen. Das Ansaugen mußte sehr vorsichtig erfolgen, damit keine Durchmischung innerhalb des Zylinders zustande kommen konnte. Aus

demselben Grunde gelangten die Kulturen an einem ruhigen Ort zur Aufstellung, wo sie weitgehend vor jeder Erschütterung geschützt waren. Jede Probe wurde anschließend mittels Filters von der Hefe getrennt und für sich bestimmt. Dasselbe geschah auch mit der Hefe. In einem Vorversuch wurde ein Zylinder analysiert, der nur mit 350 ccm Most angefüllt worden war, so daß es nur zu 6 Proben reichte. Bei der Probeentnahme traten jedoch kleinere Durchmischungen ein, so daß der Stickstoffgehalt der obersten Schicht, also der unterhalb der Kahmhaut, etwas zu hoch ausgefallen sein dürfte. Außerdem ging der Hefeaufschluß über der Flamme durch Springen des Kolbens verloren.

Die Analyse der Flüssigkeit ergab nun folgendes Bild:

Tabelle 20.

Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm in 6 verschiedenen Schichthöhen von oben nach unten in 10 Wochen.

Zentimeter	0–3,3	3,3–6,6	6,6–9,9	9,9–12,2	12,2–15,5	15,5–18,8
Milligramm	142	186	252	259	261	266

Die Übersicht läßt eine Abnahme des Stickstoffs in den Schichten von unten nach oben erkennen. Die stickstoffärmste Schicht befindet sich unmittelbar anschließend an die Kahmhaut. Da aber diese Analyse infolge der vermutlichen geringen Durchmischung vielleicht die Schichtungsverhältnisse nicht völlig richtig wiedergab, wurden im Hauptversuch weitere Zylinder mit 600 ccm Füllung der Analyse unterzogen. Sie brachte folgendes Ergebnis:

Tabelle 21.

Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm in 12 verschiedenen Schichthöhen zu je 3,3 cm von oben nach unten nach 12 Wochen gemessen.

	Schichthöhe						
	Hefe	0–3,3	3,3–6,6	6,6–9,9	9,9–12,2	12,2–15,5	15,5–18,8
Zylinder 1	58	156	225	280	291	294	295
„ 2	62	161	245	282	290	292	288

	Schichthöhe				
	18,8–21,1	21,1–24,4	24,4–27,7	27,7–31,0	31,0–34,4
Zylinder 1	296	297	291	291	280
„ 2	290	292	287	275	256

Auch diese Zusammenstellung zeigt ein Abnehmen des Stickstoffgehaltes der Schichten von unten nach oben. Mit ihren letzten Werten, die den Schichten in unmittelbarer Nähe des Hefebodensatzes entstammen, zeigt sie gegenüber den Werten der Tab. 20 eine gewisse Abweichung. Sonst aber stimmt sie mit jener fast völlig überein. Die Werte nehmen von oben nach unten zu. In den letzten Schichten oberhalb des Hefetrubs tritt eine entgegengesetzte Tendenz ein. Ihr Stickstoffgehalt wird wieder kleiner, um direkt über dem Hefedepot einen Mindestwert zu erreichen. Man ist im Gegenteil geneigt anzunehmen, daß gerade

diese Schicht über den höchsten Stickstoffgehalt verfügt. Diese scheinbare Eigenart hat ihre Ursache in der Physiologie der Hefe. Die nach unten abgesunkenen Hefezellen sind ja nicht sämtlich tot, sondern zum großen Teil noch lebend. Sie sind also noch physiologisch tätig und entnehmen den erforderlichen Stickstoff der nächstliegenden Flüssigkeitsschicht.

Ergebnis: Der Stickstoff findet sich innerhalb eines mit Kahmhefen bewachsenen Mostes in verschiedener Schichtung vor. Er nimmt von oben nach unten stetig zu. Direkt unterhalb der Oberfläche befindet sich eine stickstoffärmere Schicht. Ihr

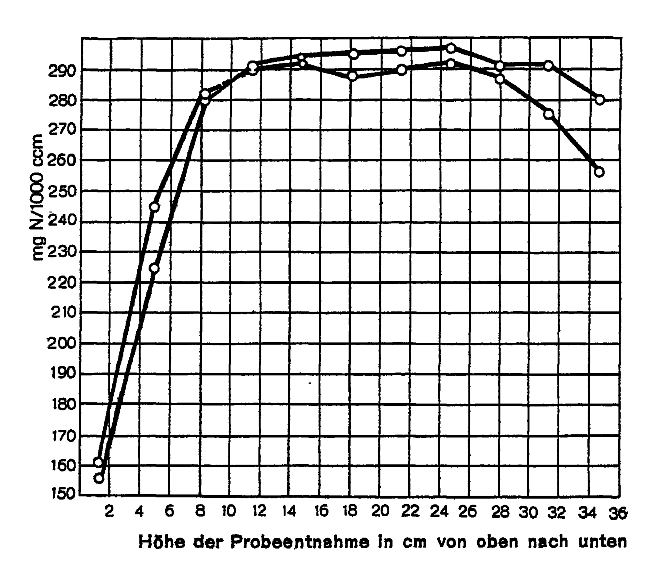


Abb. 5. Die Stickstoffverteilung innerhalb einer auf Traubenmost gezogenen Pichia-Kultur bei Probeentnahme von oben nach unten.

geringer Stickstoffgehalt würde niemals zur Anlage einer derart mächtigen Haut ausreichen. Der Ausfall dieses Versuches mit seinen von oben nach unten steigenden Werten stellt somit einen weiteren Hinweis auf den Bezug des Luftstickstoffs durch die Hefe dar.

7. Versuche mit anderen Pilzarten und mit gewöhnlicher Weinhefe.

In Erweiterung der mitgeteilten Versuche wurden außer den hautbildenden Hefen noch andere Mikroorganismen in Kultur genommen. In derselben Weise und Versuchsanordnung wie bei den Kahmhefen wurden auch noch einige andere Vertreter aus der Gruppe der Pilze auf Traubenmost herangezogen und ihr Verhalten dem Luftstickstoff gegenüber geprüft. Es handelte sich um drei Pilze, die in diesem Zusammenhang noch wenig Erwähnung gefunden haben: Endomyces vernalis, Oidium lactis und Penicillium glaucum. Endomyces vernalis bildet auf zuckerhaltigem Blutungssaft von Birkenstümpfen zusammenhängende milchig-

weiße Pilzdecken und erregt deswegen schon besondere Aufmerksamkeit. Oidium lactis wurde im Jahre 1912 von Kossowicz auf einer stickstofffreien Nährlösung herangezüchtet und als zur Assimilation des elementaren Luftstickstoffs befähigt erkannt. Für Penicillium glaucum konnte von Ternetz, Lipman und Purewitsch eine unbedeutende Stickstoffbindung festgestellt werden [W. Brenner (1914, S. 564) und Kossowicz (1914, S. 83)]. Alle drei verfügen auf Nährlösungen über ein recht gutes Wachstum, so daß mit Recht auf eine mögliche Stickstoffbindung geschlossen werden kann.

Besondere Bedeutung kommt den beiden erstgenannten Pilzen auf dem Gebiete der biologischen Eiweißsynthese zu.

Versuch 1.

Zwei Zylinder mit kleinem Querschnitt wurden mit je 100 ccm verdünntem Most gefüllt, sterilisiert und mit Endomyces vernalis beimpft. Desgleichen wurde mit zwei Zylindern größeren Durchmessers verfahren. Je ein weiteres Gefäß derselben Größenordnung blieb als Kontrolle unbeimpft. Nach Ablauf von 3½ Monaten hatte sich der Pilz kräftig entwickelt. Bei der Analyse ergaben sich folgende Werte:

Tabelle 22.

Stickstoffgehalt in Milligramm auf 1000 ccm in Kulturen von Endomyces vernalis bei verschieden großer Oberfläche nach 3½ Monaten.

	Kleine Oberfläche	Große Oberfläche
Bei Versuchsbeginn .	238	238
Nach 15 Wochen . .	268	305
Gewinn:	30	67
	12,6%	28,15%
Mehrgewinn	—	37
Nach 16 Wochen . .	—	307
Gewinn:	—	69,0
	—	28,9%

Innerhalb der Kulturen hatte also eine bedeutende Stickstoffanreicherung stattgefunden, und zwar erreichte diese in Gefäßen mit großer Oberfläche nicht nur zeitlich, sondern auch prozentual das größte Ausmaß.

Versuch 2.

Unter Verwendung des gleichen Traubenmostes, jedoch mit 2 l Füllung wurde Oidium lactis eingeimpft. Nach kurzer Zeit hatte sich an der Oberfläche die typische Decke des Pilzes gebildet. Sie wurde von Zeit zu Zeit abgeschüttelt und zum Absinken gebracht. Merkwürdigerweise konnte bei der ersten Analyse in dieser Kultur kein Stickstoffzuwachs ermittelt werden. Nach 6 wöchiger Versuchsdauer war immer noch ein Gleichstand vorhanden.

Stickstoffgehalt der Kultur bei Versuchsbeginn . . 238 mg N im Liter
Stickstoffgehalt der Kultur nach 6 Wochen . . . 238 „ N „ „

Bei diesem eigenartigen Ergebnis mag vielleicht der Umstand mitspielen, daß es trotz längeren Umschüttelns nicht gelungen ist, bei der Probeentnahme eine Durchschnittsprobe zu erhalten. Dafür spricht auch das Ergebnis der Analyse der Gesamtkultur, die zwei Tage später vorgenommen wurde.

Nährlösung: Stickstoffgehalt der Gesamtkultur .	357,1 mg N im Liter
Myzel: Stickstoffgehalt	128,37 „ N „ „
Gesamtstickstoffgehalt	485,47 mg N im Liter
Gesamtstickstoffgehalt bei Versuchsbeginn . . .	476,0 „ N „ „
Stickstoffgewinn	+ 9,47 mg N im Liter

Diese Ergebnisse zeigen, daß Oidium lactis entweder überhaupt nicht, oder nur in sehr geringem Maße zur Assimilation des elementaren Stickstoffs befähigt ist.

Versuch 3.

Eine mit 2 l verdünntem Most angefüllte große Flasche, die längere Zeit unbeimpft dastand, zuvor aber sterilisiert worden war, da sie für andere Versuche vorgesehen war, wurde von Penicillium glaucum infiziert. Der Pilz entfaltete ein dickes Myzel. Die Farbe des Mostes wurde verändert. Die nach 12 Wochen vorgenommene Analyse erbrachte ein Pilzmyzel von 52,77 g Gewicht und nachstehendem Stickstoffgehalt:

Stickstoffgehalt des Myzels nach 12 Wochen .	299,18 mg N
Stickstoffgehalt der Nährlösung n. 12 Wochen	217,0 mg N in 2 Liter
Gesamtstickstoffgehalt der Kultur	516,18 mg N in 2 Liter
Gesamtstickstoffgehalt bei Versuchsbeginn . .	476,0 mg N in 2 Liter
Stickstoffgewinn	+ 40,18 mg bzw. 8,46% im Liter

Es hatte sich also ein Zuwachs von 40,18 mg Stickstoff innerhalb der 2 l großen Mostmenge vollzogen. Nun ist bekannt, daß Penicillium glaucum auf jedem Nährboden gleichgut gedeiht. Seine Anspruchslosigkeit offenbart sich schon im Pasteurschen Versuch vom Jahre 1858, wonach erkannt wurde, daß dieser Pilz mit weinsaurem Salz als Nährmedium allein schon gedeihen kann. Gerade diese Tatsache spricht für sein Verhalten zum Luftstickstoff, wie es aus meinen Versuchen zu ersehen ist. Seinen Stickstoffbedarf deckt dieser Pilz nicht allein aus den kleinen Mengen stickstoffhaltiger Verunreinigungen aus der Luft, sondern auch aus elementarem Stickstoff.

Versuch 4.

In der Gattung Saccharomyces sind in neuerer Zeit durch die Arbeiten von Prostosserdow, Afrikian, Schanderl, Niehaus, Marcilla und Cruess besonders die sog. „Jerezhefen" in den Vordergrund praktischen und wissenschaftlichen Interesses gerückt. Die Jerezheferassen bilden nach der alkoholischen Gärung selbst noch auf Weinen bis 15 Vol.% Alkoholgehalt bei Luftzutritt dicke, fettige Häute. In diesem Hautstadium werden nach Schanderl und Marcilla und Mitarbeitern die für die Jerezweine (Sherry) typischen Geschmacks- und Bukettstoffe erzeugt. Schanderl brachte 1940 die ersten analytischen Belege, daß auch die Jerezhefen im „oxydativen Stadium" elementaren Stickstoff assimilieren.

Zur Nachprüfung der Angaben Schanderls kam ein stark hautbildender Stamm Jerezhefe der Geisenheimer Hefesammlung auf einer 2 Liter großen verdünnten Mostmenge in der üblichen Weise in Kultur. Es war bald lebhafte Gärung und anschließende Hautbildung festzustellen.

Diese Kultur wies einen Stickstoffgewinn von 31 mg im Liter nach 12 Wochen und nach weiteren 4 Wochen einen nochmaligen von 13,4 mg im Liter auf, so daß die Gesamtanreicherung in 4 Monaten 44,4 mg im Liter bzw. 88,8 mg in der Gesamtflüssigkeit betrug.

	3 Monate	4 Monate
Stickstoffgehalt bei Versuchsbeginn .	476 mg	476 mg in 2 Liter
Stickstoffgehalt der Kultur	507 mg	564,8 mg in 2 Liter
Stickstoffgewinn	31,0 mg	88,8 mg in 2 Liter
bzw.	16,5 mg	44,4 mg in 2 Liter

Das Ergebnis dieses Versuches bestätigt eindeutig die Angaben Schanderls, daß auch die Gattung Saccharomyces, und zwar im oxydativen Stadium zur Ausnützung des elementaren Luftstickstoffs befähigt ist.

D. Besprechung der Ergebnisse.

Die hautbildenden Hefen eignen sich durch ihr schnelles Wachstum besonders gut für Studien über die Frage der Assimilation des elementaren Luftstickstoffs durch freilebende Mikroorganismen. Das Problem selbst ist nicht mehr neu. Die zu seiner Klärung angestellten Versuche sind aber bisher in ihren Ergebnissen so widersprechend gewesen, daß von einer Lösung dieser wichtigen Frage nicht im entferntesten die Rede sein konnte. Die wirklich positiven Befunde galten daher bis heute immer noch mehr oder weniger als illusorisch.

In meinen Versuchen habe ich dieses Problem wieder erneut aufgerollt und unter Zugrundelegung der Schanderlschen Versuche (1940) von neuen Gesichtspunkten aus bearbeitet. Eine Reihe von hautbildenden Hefen, darunter die Kahmhefegattungen Mycoderma, Willia und Pichia, dann auch eine nichthautbildende Torula-Hefe und einige Vertreter aus der Gruppe der Fadenpilze kamen auf Traubenmost und einer Tomaten-Kochsalzbrühe und auf synthetischen Nährlösungen zur Entwicklung. Im Verlaufe einer mehrmonatigen Versuchsdauer konnte für die meisten von ihnen eine recht beachtliche Fähigkeit zur Bindung des elementaren Luftstickstoffs nachgewiesen werden.

Von recht bescheidenem Erfolg waren meine Versuche, die Rolle des „Startstickstoffs" in synthetischen Nährlösungen durch genau dosierte Stickstoffgaben herauszustellen. Es ergab sich, daß für den Ausfall solcher Versuche noch weitere Faktoren verantwortlich zu machen sind. Als solcher ergab sich ohne weiteres die nur 6- und 10-wöchige Versuchsdauer. Auch Kossowicz war es nicht gelungen, in etwa demselben Zeitraum einen Stickstoffzuwachs seiner Kulturen festzustellen. Dagegen gelang es J. Scheckenbach in 4-monatigen Versuchen, selbst in synthetischen stickstofffreien und stickstoffarmen Nährlösungen, Stickstoffgewinne nachzuweisen; sie betrugen in 10 ccm Nährlösung 1,168 und 4,584 mg.

Für die Unzulänglichkeit einer nur kurzfristigen Versuchsdauer spricht allein schon die äußerst kümmerliche und langsame Hautentwicklung auf synthetischen Nährlösungen. Es hat sich bei meinen Versuchen gezeigt, daß die Stickstoffbindung erst dann in Gang kommt, wenn die Kultur eine geschlossene Haut besitzt. Vor diesem Zeitpunkt war stets ein Gleichstand im Stickstoffgehalt vorhanden. Selbst nach 10-wöchiger Versuchsdauer ließen sich erst ganz geringe Stickstoffgewinne nachweisen.

Vergleicht man die einzelnen Versuchsergebnisse, die auf den verschiedenen von mir verwendeten Nährlösungen bei längerer Versuchsdauer erzielt worden sind, so lassen sich deutliche Unterschiede aufzeichnen. Die auf Traubenmost gezogenen Kulturen, ganz gleich welchen Verdünnungsgrades, wiesen — rein äußerlich beurteilt — ein viel freudigeres Wachstum auf. Recht günstig gestaltete sich das Wachstum auf der Tomaten-Kochsalzlösung. Die Entwicklung auf der synthetischen N-freien Nährlösung ging jedoch äußerst langsam vor sich. Immerhin kam es zu einer wahrnehmbaren Hautbildung und analytisch sicher erfaßbaren und einwandfrei über der Fehlergrenze liegenden Stickstoffzunahme, deren absolute Größen aber wenig überzeugend wirken. Die Ursachen dieser Unterschiedlichkeit vermutete ich daher zunächst im Fehlen der Stickstoffverbindungen bzw. in der geringen Höhe des Anfangsstickstoffgehaltes der Nährlösung. Auf einen günstigen Einfluß dieses „Startstickstoffes" auf die Bindung des elementaren Luftstickstoffs lassen die Versuchsreihen mit verschieden stark verdünnten Traubenmosten schließen. Nach dem ziemlich negativen Ausfall der Versuchsreihen mit synthetischer Nährlösung und gestaffelten Gaben von anorganischen und organischen Stickstoffverbindungen ist jedoch die günstige Wirkung der Konzentration bestimmt nicht nur durch den „Startstickstoff" des jeweiligen Mostes allein erzielt worden, sondern aller Wahrscheinlichkeit nach auch durch die größere Konzentration anderer stofflicher Anteile, sei es in Form von Verunreinigungen, Metallsalzen, Wuchsstoffen, Biokatalysatoren oder auch von Spurenelementen. Ob vielleicht entsprechende Verhältnisse vorliegen, wie sie M. Schröder (1930) für Azotobacter nachweisen konnte, sei dahingestellt und für entsprechende Versuche offen gelassen.

Von verschiedener Seite wird auch der Gegenwart von destilliertem Wasser in Nährlösungen eine hemmende Wirkung auf die Assimilation des elementaren Stickstoffs zugeschrieben. Es wäre dies leicht verständlich, da hier die im Leitungswasser vorkommenden Salze und Basen fehlen. Kossowicz (1914) kam daher zu einem gegenteiligen Ergebnis. Seine unter Verwendung von Leitungswasser gezogenen Kulturen zeigten gegenüber früheren (1912) auf Nährlösungen mit destilliertem Wasser gezüchteten Kulturen keine Stickstoffanreicherung mehr. In eigenen Versuchen aber fand ich dies nicht bestätigt. Die bei mir auf mit Leitungswasser verdünntem Traubenmost herangewachsenen Kulturen blieben in ihren Ergebnissen kaum hinter denen auf mit destilliertem Wasser verdünntem Traubenmost zurück.

In einem wesentlichen Punkt aber unterscheiden sich meine Versuche von allen bisher bekannt gewordenen, mit Ausnahme der von H. Schanderl mitgeteilten. Es ist dieses die Art und die Zusammensetzung der Nährlösung. Daher fällt es auch schwer, andere Ergebnisse zum Vergleich mit heranzuziehen, da sie ausnahmslos mit Kulturen auf künstlichen Nährlösungen erzielt wurden. Ihre Ergebnisse entsprechen vielmehr den von mir auf der stickstofffreien Nährlösung erzielten. Diese geringen Unterschiede könnten aber mit Recht Veranlassung geben, die Frage als abwegig zu beurteilen, da sie immerhin noch nahe der Fehlergrenze liegen. Denn auch die Kontrolle hat bei meinen Versuchen in einem Jahr eine Zunahme von 2,5 mg Stickstoff im Liter zu verzeichnen[1]). Die Werte der beimpften Lösungen schwanken dagegen nur innerhalb 5,8 und 13,2 mg Stickstoff im Liter. Etwa in den gleichen Grenzen bewegen sich die Ergebnisse, die H. Will (1912) mit

[1]) Dies ist nicht verwunderlich, da in Räumen, in denen sich Menschen aufhalten, immer Ammoniak in geringen Mengen in der Luft nachzuweisen ist.

verschiedenen Torula-Arten auf künstlicher Nährlösung (0,5 g KH_2PO_4, 0,2 g $MgSO_4$, 20 g Saccharose und 1000 g dest. Wasser) erhielt, und die er als Beweis für Stickstoffprotrophie angesprochen hat. Unterschiede waren bei ihm besonders zwischen den Kulturen in Erscheinung getreten, die auf verschiedenen Nährmedien gezüchtet worden waren. So zeigten die auf Nährlösungen gezogenen Kulturen ein höheres Ergebnis als die auf festen Nährböden gleicher Zusammensetzung herangewachsenen.

Man kann es nur bedauern, daß H. Will seine vielversprechenden Versuche nicht auf einer erweiterten Grundlage fortgeführt hat. Vermutlich wäre diese Frage schon viel früher einer endgültigen Klärung zugeführt worden. Immerhin mutet es recht merkwürdig an, daß nicht eher schon auf andere Nährböden zurückgegriffen wurde. Die synthetische Nährlösung hat wohl den Vorteil der äußerst genauen Dosierung der einzelnen Nährstoffe für sich, da es aber weniger auf diese als vielmehr auf die genaue Erfassung des Stickstoffanteils ankommt, verliert dieser Punkt an Bedeutung. Die Verwendung des Traubenmostes als Nährlösung ist um so gegebener, als dieser mit dem natürlichen Vorkommen der betreffenden Mikroorganismen zusammenhängt. Ihre Entwicklung auf ihm ist so günstig, daß schon dem äußeren Anschein nach auf eine Stickstoffzunahme geschlossen werden kann.

Ein bedeutender Faktor, der bisher fast ganz übersehen wurde, konnte im Reaktionszustand der Nährlösung erkannt werden. Es zeigte sich nämlich, daß zwischen p_H-Zahl und Bindung des elementaren Luftstickstoffs durch die verwendeten Hefen ein enger Zusammenhang besteht. Um dieses klar zu ersehen, wurden die gefundenen Analysenwerte in Abb. 4 graphisch dargestellt. Die Reaktion der Nährlösung ist also von ausschlaggebender Bedeutung für die Höhe der Stickstoffestlegung in Nährlösungen. Der günstigste Wirkungsbereich für hautbildende Hefen befindet sich nicht im sauren oder neutralen Bereich, über den die synthetischen Nährlösungen auf Grund ihrer Zusammensetzung verfügen, sondern eindeutig im alkalischen Gebiet.

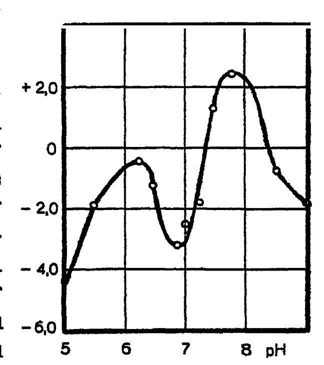


Abb. 6. Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch die Hefe als eine Funktion der Wasserstoffionenkonzentration nach E. J. Fulmer. N-Gewinn in Milligramm in 1000 ccm Nährlösung.

Zum Vergleich führe ich das von Fulmer für Saccharomyces cerevisiae gefundene Kurvenbild an. In seinem Verlauf läßt es eine ziemlich gute Parallele erkennen. Beide Kurven weisen Höchstwerte auf, die, abgesehen von der kleinen Verschiebung, die der zweite Höchstwert erreicht, an gleicher Stelle zu liegen kommen. Meine Beobachtungen über die Abhängigkeit der Bindung des elementaren Luftstickstoffs durch hautbildende Hefen von der Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung stimmen damit mit denen von Fulmer überein.

Da ich bei späterer Nachprüfung feststellen konnte, daß meine Kulturen auf den synthetischen stickstoffhaltigen Nährlösungen einen p_H-Wert von 3,5—3,6 aufwiesen — der Ausgangswert lag bei p_H 4,0 —, war es mir klar, daß das Fehlschlagen dieser Versuche mit in ungenügender Berücksichtigung der Reaktion der verwendeten Nährlösung begründet sein dürfte.

Bei der Bestimmung des Stickstoffs wurde nach der verbesserten Makro-Kjeldahl-Methode in der Modifikation von J. K. Parnas und Wagner

[Parnas (1938)] verfahren. Zur Titration standen Mikrobüretten zur Verfügung. Damit konnten sowohl die der alten Makro-Kjeldahl-Methode anhaftenden Fehlermöglichkeiten, wie auch umgekehrt die bei der Mikro-Methode evtl. auftretenden kleinen Analysenfehler, die bei späterer Umrechnung auf eine größere Einheit stark in Erscheinung treten, vermieden werden. Selbst wenn man noch weitere mögliche Fehlerquellen in Erwägung zieht, so ist die Stichhaltigkeit meiner Ergebnisse hinreichend gesichert. Auch in Kulturen, die mit gereinigter Luft durchströmt wurden, kam es zu einer beachtlichen Stickstoffanreicherung. Andererseits war selbst in Kulturen, die durch Gäraufsätze von der Außenluft abgeschlossen waren, ein größerer Stickstoffgewinn zu verzeichnen, als es jemals durch die geringen Spuren der im überstehenden Luftraum enthaltenen Stickstoffverunreinigungen möglich gewesen wäre. Die Entwicklung ging lediglich etwas langsamer vor sich.

Keine Anhaltspunkte konnten indessen für die von Baltatu (1939, S. 208) und H. Schanderl in anderem Zusammenhang festgestellte Besonderheit der Plasmaausscheidungen bei Kahmhefezellen gefunden werden. Schanderl glaubte, daß diese an den Außenseiten der Hefezellen sitzenden runden Plasmakügelchen in Zusammenhang mit der Assimilation des elementaren Luftstickstoffs stehen könnten.

Von nennenswertem Einfluß erwies sich die Gestaltung der Oberfläche. Hatte ihr H. Schanderl schon einen günstigen Einfluß zugeschrieben, so konnte seine Feststellung in meinen Versuchen bestätigt werden. Mit größerer Oberfläche war nicht nur allein eine verstärkte Hautdeckenbildung erfolgt, sondern in ihrem Zuge auch ein größerer Stickstoffgewinn der Kulturen. Deckenbildung und Bindung des elementaren Luftstickstoffs lassen damit einen direkten Zusammenhang erkennen.

Die Abhängigkeit der Deckenbildung auf Mosten vom Zutritt der Außenluft ist dem Praktiker schon längst — als störendes Moment in seinem Keller — bekannt. Daher sucht er ihre Entfaltungsmöglichkeit durch vollständigen Abschluß und durch Spundvollhalten der Fässer zu unterdrücken, um so die geringste Oberfläche und den kleinsten Luftraum zu erhalten.

Als wesentlichstes Versuchsergebnis läßt sich also feststellen, daß es mir in Übereinstimmung mit H. Schanderl gelungen ist, die Eigenart der mächtigen Deckenbildung einer befriedigenden Erklärung zuzuführen. Schanderl hatte darauf hingewiesen, daß der im Most und Wein vorhandene Stickstoff niemals zur Anlage derart mächtiger Hautdecken und nicht zu der in so verhältnismäßig kurzer Zeit erfolgten Ablage von Hefedepots in 10—50 mm Mächtigkeit ausreichen könnte. Im Stadium der Hautbildung binden auch die gewöhnlichen Hefen und nicht allein die Kahmhefen elementaren Stickstoff der Luft. Je stärker die Deckenbildung erfolgt, desto größer ist die Stickstoffanreicherung in der Nährlösung. Die organischen Bestandteile des Mostes dienen hierbei als Energiequelle.

Allem Anschein nach handelt es sich bei den für die hautbildenden Hefen gemachten Feststellungen um keine spezifische Ausnahmestellung. Vielmehr scheint die Fähigkeit zur Bindung des elementaren Luftstickstoffs eine Allgemeinerscheinung in der Natur der freilebenden Mikroorganismen zu sein.

Für diese Annahme sprechen recht eindeutig die Ergebnisse meiner Versuche mit Schimmelpilzen. Auch diese brachten es mit Ausnahme von Oidium lactis zu größeren Stickstoffgewinnen. Für Oidium lactis scheinen die Verhältnisse etwas anders zu liegen. Dieser Pilz konnte im

Gegensatz zu Kossowicz (1912) nur als bedingt befähigt zur Stickstoffbindung erkannt werden.

Die Bedeutung der gelösten Frage ist folgende: Die zur Assimilation des elementaren Stickstoffs befähigten Mikroorganismen führen in Traubenmosten zu einer Stickstoffbindung. Diese beruht jedoch nicht wie beim Vorgang der biologischen Eiweißsynthese in einer rein quantitativen Umformung von bereits vorhandenen anorganischen Stickstoffverbindungen, sondern in einer Anreicherung aus elementarem Stickstoff der Luft. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei der biologischen Eiweißsynthese um einen Vorgang, bei welchem mit Hilfe von Hefen mit nur schwachem Gär- und besonders starkem Vermehrungsvermögen in Nährlösungen aus Kohlehydraten und anorganischen Nährsalzen, vor allem anorganischen Stickstoffverbindungen, eine Umformung dieser anorganischen Stickstoffsalze in hochwertiges Eiweiß, in Form von Futterhefe, erzielt wird.

Zusammenfassung.

1. In ausgedehnten Versuchen wurde die Stickstoffassimilation der wichtigsten hautbildenden Hefen unter den von H. Schanderl aufgezeichneten neuen Gesichtspunkten näher studiert. Als Versuchsobjekte dienten Saccharomyceten mit je einem Vertreter der Gattungen Saccharomyces, Mycoderma, Willia, Pichia und Torula sowie einige Vertreter aus der Gruppe der Fadenpilze: Endomyces vernalis, Oidium lactis und Penicillium glaucum.

2. Unter den von mir gewählten Versuchsbedingungen konnte in Übereinstimmung mit H. Schanderl bei allen, mit Ausnahme von Oidium lactis[1]), die Fähigkeit zur Assimilation des elementaren Luftstickstoffs nachgewiesen werden. In zusätzlichen Versuchen konnten die Ergebnisse der ersten Versuchsreihen bestätigt werden.

3. Die Hautbildung und die Bindung des Luftstickstoffs stehen in engem Zusammenhang. Je günstiger die Bedingungen zur Hautbildung sind, desto größer ist die Ausbeute an Luftstickstoff.

4. Für die Assimilation des elementaren Luftstickstoffs war die Temperatur von ausschlaggebender Bedeutung. Jede Hefeart wies ein eigenes Temperaturoptimum für die Stickstoffbindung auf.

5. Je größer die Oberfläche, in desto schnellerem Tempo erfolgte die Stickstoffentnahme aus der Luft.

6. Die Bindung des elementaren Luftstickstoffs durch hautbildende Hefen ist eine Funktion der Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung mit zwei optimalen Bereichen bei p_H 6,0 und p_H 8,4, wobei der letztere der bedeutendere ist.

7. Schon die Ergebnisse vergleichender Versuche mit und ohne Gäraufsätze lassen den Schluß zu, daß die mit Watteverschluß durchgeführten Versuche die Stickstoffzunahme nicht aus Luftverunreinigungen, sondern tatsächlich aus elementarem Stickstoff erzielt haben müssen.

8. Bei mechanischer Durchlüftung mit von Stickoxyd- und Ammoniakspuren gereinigter Luft wird eine deutliche Steigerung der Luftstickstoffbindung bewirkt.

9. Die in älteren Versuchen bei höheren Temperaturen beobachteten Abnahmen des Gesamtstickstoffgehaltes erklären sich aus dem Auftreten von

[1]) Oidium lactis wurde von H. Schanderl nicht untersucht.

flüchtigen Stickstoffverbindungen, welche in die Luft entweichen. Es gelang diese aufzufangen und annähernd quantitativ zu bestimmen.

10. Der Stickstoff in einer mit Kahmhefe bewachsenen Kultur findet sich in verschiedener Schichtung vor.

11. Auch für Endomyces vernalis und Penicillium glaucum konnte einwandfrei die Fähigkeit der Bindung elementaren Luftstickstoffs nachgewiesen werden. Dagegen verliefen Versuche mit Oidium lactis negativ.

12. Auch die gewöhnliche Weinhefe ist im oxydativen Stadium, sofern sie einer dazu befähigten Rasse angehört, imstande, den Luftstickstoff in ihren Haushalt einzubeziehen.

Literaturverzeichnis.

1. Baltatu, Gh., Mycoderma als echte Saccharomyceten. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 101. 1939. S. 196.) — 2. Benrath, A., Chemie zur Stickstoffassimilation. (Nat. Mon. Bd. 19. 1920. S. 89.) — 3. Bokorny, Fr., Die Biosfrage und die mineralische Ernährung der Hefe. (Allg. Brau- u. Hopfenztg. 1907. 7. Febr.) — 4. Bokorny, Fr., Bindungsvermögen lebender Hefen für Ammoniak. (Allg. Brau- u. Hopfenztg. Bd. 54. 1914. S. 97.) — 5. Böttger, H., Über die Giftwirkung der Nitrate auf niedere Organismen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 54. 1921. S. 220.) — 6. Blom, J., Ein Versuch, die chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Mikroorganismen zu klären. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 84. 1931. S. 60.) — 7. Buromsky, Iv., Über den Einfluß der organischen Säuren auf die Hefe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. 1915. Bd. 42. S. 530.) — 8. Buchner, P., Tier und Pflanze in intrazellularer Symbiose. Berlin 1921. — 9. Brenner, W., Die Stickstoffernährung der Schimmelpilze. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 40. 1914. S. 555.) — 10. Claasen, H., Die Assimilierbarkeit des Stickstoffs der Nährstoffe durch die Hefe. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 39. 1926. S. 443.) — 11. Dvornik, R., Über die Sporulation der Apikulatushefen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 316.) — 12. Effront, J., Über die Bildung der Eiweißstoffe durch die Hefen. (Compt. rend. Ac. d. sciences. T. 184. 1927. p. 399.) — 13. Ehrlich, F., Neuere Untersuchungen über die Vorgänge beim Eiweißabbau der Hefe. (Österr. Chem. Ztg. Jahrg. 16. 1. Dez. 1913. Nr. 23. S. 323.) — 14. Euler, H. und Fink, H., Stickstoffgleichgewicht in Hefezellen. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physik. Chem. Bd. 157. 1926. S. 222.) — 15. Fink, H., Neue Wege zur Eiweißfuttererzeugung in den landwirtschaftlichen Brennereien im Rahmen des Vierjahresplanes. (Sonderdr. aus Spiritusindustrie. Bd. 9. 1939.) — 16. Fink, H., Haeseler, G. und Schmidt, M., Zur Frage der Fettgewinnung mit Hilfe der Mikroorganismen. Über das Fettbildungsvermögen verschiedener Stämme von Oidium lactis. (Sonderdr. Nr. 11/12 aus Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1939.) — 17. Fink, H., Lechner, R. und Krebs, J., Beiträge zur biologischen Zellsubstanzsynthese der Hefe. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 56. 1939. S. 85—86, 93—94.) — 18. Fulmer, E. J., The Utilization of atmospheric nitrogen by Saccharomyces cerevisiae. (Science. Vol. 57. 1923. p. 645.) — 19. Fulmer, E. J., and Christensen, Leo M., The Fixation of atmospheric nitrogen by yeast as a function of the hydrogen ion concentration. Journ. of physikal. Chemistry. Vol. 29. 1925. p. 1417—1422.) — 20. Geiger, A., Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. 1910. S. 97.) — 21. Gollmick, F., Der Einfluß von Zink, Eisen, Kupfer und deren Kombination auf das Wachstum von Aspergillus niger. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. 1936. Bd. 93. S. 421.) — 22. Hansen, Chr., Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. 1904. Bd. 12. S. 259.) — 23. Heide, S., Zur Physiologie und Zytologie der Fettbildung bei Endomyces vernalis. (Arch. f. Mikrob. Sonderdr. aus Bd. 10. 1939. Heft 2.) — 24. Iwanoff, N. J., Über die Ausscheidung der Hefe während der Gärung. (Biochem. Ztschr. Bd. 212. 1929. S. 255.) — 25. Iwanoff, N. J., Über die Eiweißspaltung in Hefen während der Gärung. (Biochem. Ztschr. Bd. 120. 1921. S. 28.) — 26. Iwanoff, N. J., Über die Verwandlung stickstoffhaltiger Substanz bei den Endphasen der Hefeautolyse. (Biochem. Ztschr. Bd. 120. 1921. S. 1.) — 27. Kossowicz, A., Die Bindung des elementaren Luftstickstoffs durch Saccharomyceten. (Ztschr. f. Gärungsphys. Bd. 1. 1912. S. 253.) — 28. Kossowicz, A., Zur Frage der Assimilation durch Hefen und Schimmelpilze. (Ztschr. f. Gärungsphys. Bd. 64.

1914. S. 82.) — 29. Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Bd. 4. 1907. — 30. Lechner, R., Über die Vorgänge beim Abbau der Hefesubstanz und der möglichen Ausbeute bei der Hefezuckerung. (Forschungsdienst. Bd. 2. 1936. S. 409.) — 31. Lindner, R. und Naumann, C., Zur Frage der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Hefen und Schimmelpilze. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. 30. 1914. S. 589.) — 32. Ludwig, L., Über den Wachstumsverlauf von Hefe in Würze. (Biochem. Ztschr. Bd. 167. 1926. S. 384.) — 33. Kiene, E., Über die Ernährung des Kellerschimmels mit verschiedenen gasförmigen Verbindungen usw. (Vorratspfl. u. Lebensm.-Forsch. Bd. 2. 1939. Heft 11/12.) — 34. Meißner, R., Die Bestandteile des Mostes und Weines in ihrer Bedeutung für die Kahmhefen. (Weinbau u. Weinhandel. Bd. 91. 1901. S. 484.) — 35. Meißner, R., Zur Morphologie und Physiologie der Kahmhefen und hautbildenden Saccharomyceten. (Landw. Jahrb. Jahrg. 30. S. 491—582.) — 36. Meißner, R., Technische Betriebskontrolle im Weinfach. Stuttgart. — 37. Meyer, A., Die Stickstoffernährung der Hefe. Heidelberg 1869. — 38. Müller, W., Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. 3. Mitt.: Über die Pilzsymbiose holzfressender Insektenlarven. (Arch. f. Mikrob. Bd. 5. 1934. S. 84.) — 39. Niehaus, Ch., Untersuchungen über Apikulatushefen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 87. 1933. S. 97.) — 40. Niehaus, Ch., Studies on the nitrogen content of south african musts and wines. (Sciences Bulletin. Vol. 172. 1938. Serie 28.) — 41. Nielsen, N., Untersuchungen über die Stickstoffassimilation der Hefe. VII. Untersuchungen über das Vermögen der Hefe, Aminosäuren zu assimilieren. (C. R. Lab. Carlsb. Sér. phys. Bd. 21. 1936. S. 395.) — 42. Nielsen, N. u. Hartelius, Untersuchung über die Stickstoffassimilation der Hefe. VIII. Untersuchungen über die Stickstoffabgabe während des Wachstums. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 54. 1937. S. 129—131, 137—141.) — 43. Pringsheim, H., Über ein Stickstoff assimilierendes Clostridium. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 16. 1906. S. 785.) — 44. Pringsheim, H., Zur Stickstoffassimilation in Gegenwart von Salpeter. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 40. 1914. S. 21.) — 45. Pringsheim, H., Über die Stickstoffernährung der Hefe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907. S. 310.) — 46. Roberg, M., Zur Frage der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Aspergillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 466.) — 47. Schander, R. und Fischer, W., Zur Physiologie von Phoma betae. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922. S. 116.) — 48. Schanderl, H., Die Nutzbarmachung des oxydativen Stadiums der Hefe bei der Trauben- und Beerenweinbereitung. (Vorrats- u. Lebensmittelforsch. Bd. 1. 1938. S. 456.) — 49. Schanderl, H., Untersuchungen über die systematische Stellung und Physiologie des Kellerschimmels Rhacodium cellare (Persoon). (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. 1936. Bd. 94. S. 112.) — 50. Schanderl, H., Untersuchungen über die Assimilation des elementaren Stickstoffs der Luft durch hautbildende Hefen und durch Cladosporium cellare. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 101. 1940.) — 51. Schanderl, Beweise für die Fähigkeit zur Assimilation des molekularen Stickstoffs der Luft durch die Bakterien einiger Nichtleguminosen. (Gartenbauwiss. Bd. 15. 1940. Heft 1.) — 52. Schanderl, H., Über die Bakteriensymbiose der Leguminosen und Nichtleguminosen. (Gartenbauwiss. Bd. 13. 1939. S. 3.) — 53. Scheckenbach, J., Beiträge zur Kenntnis der Torulaceen in chemisch physiologischer Beziehung. Diss. Nürnberg 1911. 54. Schellenberg und Kuhn, M., Die chemische Veränderung des Weines durch Kahm. (Ztschr. f. Unters. d. Lebensm. Bd. 57. 1929. S. 313.) — 55. Schober, R., Luftstickstoffassimilation und Säurebildung bei Aspergillus niger. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 72. 1930. S. 1.) — 56. Schröder, M., Die Assimilation des Luftstickstoffs durch einige Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 85. 1932. S. 117.) — 57. Stahel, Stickstoffbindung durch Pilze bei gleichzeitiger Ernährung mit gebundenem Stickstoff. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 49. 1911. S. 36.) — 58. Tempel, E., Untersuchungen über die Variabilität der Ascomyceten. (Arch. f. Mikrob., Sonderdr. aus Bd. 2. 1931. Heft 1.) — 59. Tereetz, Über die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Pilze. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 44. Heft 3. S. 267.) — 60. Tereetz, Über die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch ein Torf bewohnenden Pilz. (Ber. d. Bot. Ges. Bd. 21. 1904.) — 61. Will, H., Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 34. 1912. S. 17.) — 62. Zikes, H., Über eine den Luftstickstoff assimilierende Hefe (Torula Wiesneri). (Sitzungsber. d. k. Ak. d. Wiss., Wien, math.-nat. Kl. Abt. I. Bd. 108. Juli 1909, Sonderdr.) — 63. Zikes, H., Über den Einfluß der Temperatur auf verschiedene Funktionen der Hefe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 49. 1922. S. 174, 363; Bd. 50. S. 385.)

Aufbewahrungsgefäß für sterile Flüssigkeiten mit Tropfenentnahme.

[Aus dem Institut für landwirtschaftliche Technologie der Technischen Hochschule Graz.]

Von **Franz Fuhrmann.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Bei Untersuchungen von Reinkulturen im hängenden Tropfen und auch bei der Herstellung der Ausstrichpräparate wird die Verwendung von sterilen Aufschwemmungs- und Verdünnungsmitteln häufig notwendig. Unerläßlich ist sie bei der Anlage von Tropfenreinkulturen unter mikroskopischer Kontrolle, ausgehend von einer oder nur wenigen Zellen. Meist werden für diese Zwecke die Lösungen in kleinen Proberöhrchen mit Watteverschluß steril vorbereitet, was aber den Nachteil hat, daß die Flüssigkeiten rasch eindunsten und bei zahlreicher Tropfenentnahme sich sehr leicht Infektionen mit Luftkeimen einstellen.

Schon vor längerer Zeit hat Reinert[1]) ein Aufbewahrungsgefäß für sterile Nährlösungen mit einer Tropfenentnahmeeinrichtung beschrieben, das zwar für die Zwecke der Anlage von Tropfenkulturen verwendbar, aber im Gebrauch nicht nur wenig handlich, sondern auch sehr gebrechlich ist, abgesehen davon, daß für die Entnahme erst eine kleine Menge Vorratsflüssigkeit herausgeblasen und davon ösenweise entnommen wird. Bei der weiteren Aufbewahrung trocknet der nicht verbrauchte Rest allmählich ein. Wird nun nach einiger Zeit zwecks weiterer Entnahme Flüssigkeit hinzugepumpt, so treten unkontrollierbare Konzentrationsänderungen ein.

Wir haben uns nun eine Einrichtung geschaffen, die die Jenaer Glaswerke Schott & Gen. herstellen. Jeder Kautschuckverschluß ist vermieden. Vom Ausflußrohr wird unter sterilen Bedingungen die Platinöse unmittelbar mit der jeweiligen Lösung beschickt. Verdunstung und Infektionsmöglichkeit der aufbewahrten und zu entnehmenden sterilen Flüssigkeit sind auf ein Minimum heruntergesetzt.

Diese Einrichtung besteht aus einem 100 ccm Erlenmeyerkolben mit langem Normal-Außenschliff und einem mit einem Innenschliff versehenen Doppelkugelaufsatz für die Flüssigkeitsentnahme. Die Entnahmeeinrichtung setzt sich aus zwei Kugeln zusammen, die von dem fast bis zum Boden des Kolbens reichenden 1—2 mm weiten Ausflußkapillarrohr durchzogen werden. Es endet nach unten gebogen in der oberen Kugel, die einen schräg aufsteigenden Seitenansatz von ca. 10 mm Innenweite trägt, dessen Ende so abgeschrägt ist, daß die Eingangsöffnung vollkommen überdacht wird. Dadurch wird das Tubusinnere während der Flüssigkeitsentnahme vor aus der Luft einfallenden Keimen geschützt. Bei Nichtgebrauch wird der Tubus durch eine mit geringem Spiel aber leicht aufschiebbare zylindrische Kappe verschlossen, deren Ende eine Befestigungsöse trägt. Mit einem eingeknüpften Bindfaden hängt die abgezogene Verschlußhülse so an der Öse der oberen Kugel, daß sie frei, ohne den Tisch berühren zu können,

[1]) Reinert, G., Ein neues Aufbewahrungsgefäß für Nährlösungen zu Tropfenkulturen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 80. 1930. S. 203.)

schwebt. Man schützt sie auf diese Weise vor dem Verstauben ihrer inneren Oberfläche und kann sie wieder ohne Abflammen aufschieben. Die untere Kugel trägt den weiteren Einblasetubus, der in sie mit enger Öffnung mündet. Er wird dicht mit Watte gestopft, welche als Filter fur die eingeblasene Luft dient.

Abb. 1 gibt die Einrichtung bereits gefullt und sterilisiert gebrauchsfertig wieder. Die maximale Flussigkeitsfüllung beträgt etwa 60 ccm. Es empfiehlt sich, die ungefüllt zusammengestellte Einrichtung bei mit Watte versehenem Einblastubus einer 2stündigen Vorsterilisation im Heißluftschrank bei 160° zu unterwerfen. In den Kolben der sterilisierten Apparatur füllt man die gewünschte Lösung oder fur Verdünnungszwecke Leitungswasser (stets ausgekocht, um Kalkausscheidungen zu vermeiden). Vor Auf-

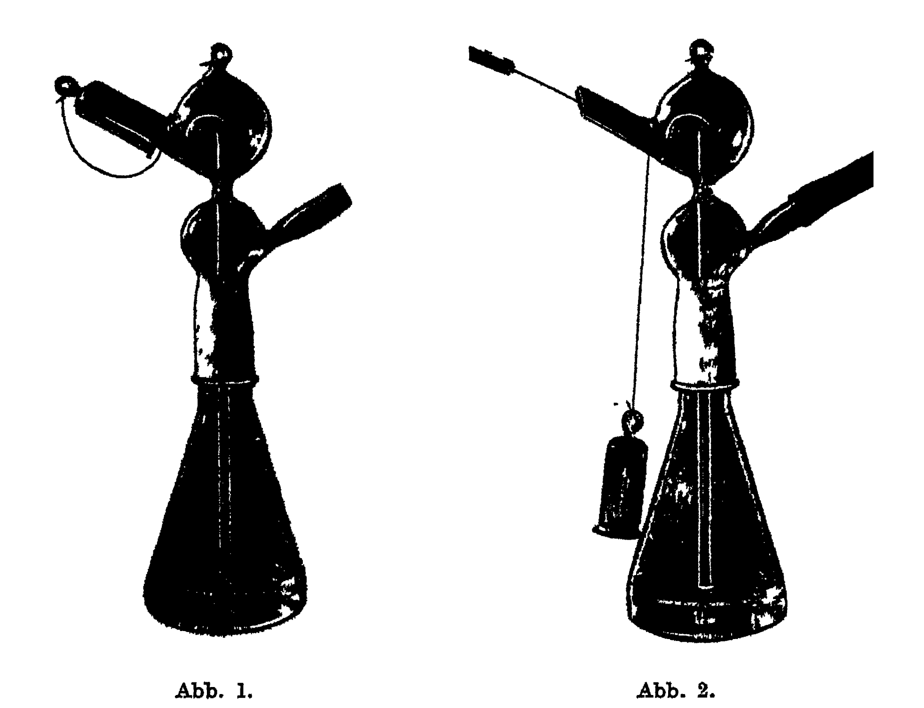


Abb. 1. Abb. 2.

setzen des Kappenschliffes bestreicht man das untere Drittel des Kolbenschliffes mit hochprozentigem Glyzerin oder mit Milchsäure in dünner Schicht als Dichtungsmittel. Wichtig ist es, daß das obere Drittel der Schliffverbindung von dem Dichtungsmittel vollständig frei bleibt. Nunmehr wird diskontinuierlich oder im Autoklaven in bekannter Weise sterilisiert.

Das Aufbewahrungsgefäß im Gebrauch zeigt die Abb. 2. Dabei wird über den Einblasetubus ein mindestens ½ m langer, dünnwandiger Kautschuckschlauch gezogen. Soll eine größere Anzahl von Tropfen rasch hintereinander entnommen werden, schließt man den Schlauch unter Zwischenschaltung eines Federquetschhahnes an das Ausströmrohr eines mit Luft gefüllten Gasometers an, der einen fein regulierbaren Sperrhahn hat. Der

Druck im Gasometer darf 20 cm Wassersäule nicht unterschreiten. Nach vollzogenem Anschluß wird bei geöffnetem Federhahn durch sehr vorsichtiges und langsames Öffnen des Gasometerhahnes gerade soviel Innendruck im Aufbewahrungsgefäß erzeugt, als zum langsamen Anstieg der Flüssigkeit bis zum Austritt aus der Kapillare in der oberen Kugel notwendig ist. Jetzt wird der Federhahn schlagartig geschlossen, wodurch die Luftzufuhr plötzlich gesperrt wird. Der Gasometerhahn wird weiterhin nicht mehr in seiner Stellung geändert, höchstens wenn nach längerer Zeit eine geringfügige Nachregulierung notwendig ist. Es wird nunmehr vom Entnahmetubus die Kappe abgenommen, die ausgeglühte Platinöse eingeführt und in die Stellung gebracht, die in der Abb. 2 wiedergegeben ist. Jetzt wird nur der Federhahn am Schlauch solange geöffnet, bis die für die Ösenfüllung nötige Menge von Flüssigkeit aus der Kapillare geflossen ist. Nach jeder Entnahme wird mit der am Faden hängenden Kappe der Entnahmetubus geschlossen.

Handelt es sich um zeitlich weit auseinanderliegende Entnahmen einzelner oder nur weniger Tropfen, unterbleibt der Anschluß des Gerätes an einen Gasometer. Man bläst dann wie bei einer Spritzflasche die Flüssigkeit mit dem Munde heraus, was sehr sachte zu geschehen hat. Der lange Schlauch bewährt sich in diesem Falle besonders, weil man während des Lufteinblasens das Steigen der Flüssigkeit und den Austrittsvorgang sehr gut beobachten und dementsprechend den richtigen Druck leicht herstellen kann. Auch verhindert die größere Schlauchlänge eine Durchfeuchtung des Wattefilters, das in feuchtem Zustande häufig von Schimmelpilzen durchwachsen wird, deren Sporen dann die Flüssigkeit infizieren. Nach solchen Einzelentnahmen ist es zweckmäßig, durch sehr gelindes Lufteinsaugen nach Verschluß des Entnahmetubus den oberen Teil des Kapillarrohres zu entleeren, um Verkrustungen der Ausflußöffnung zu verhindern. Bei Leitungswasser ist diese Maßnahme unnötig.

Statt durch Einblasen kann man die Tropfen auch dadurch entnehmen, daß man bei dauernd durch einen Quetschhahn oder mit einem Glasstab verschlossenem Schlauchende vorsichtig den Schlauch zusammendrückt und nach Abfallen des Tropfens in die Öse ihn wieder langsam entspannt, wodurch die Flüssigkeit in die Kapillare zurückgesaugt wird.

Nach größeren Reihenentnahmen und bei öfteren Einzelentnahmen innerhalb längerer Zeit ist eine Nachsterilisierung im strömenden Dampf sehr zu empfehlen, um stets eine tatsächlich sterile Lösung zur Hand zu haben.

Die Einrichtung hat sich bei der Anfertigung von Reinkulturausstrichpräparaten, bei der Anlage von Tropfenreinkulturen und bei Untersuchungen mit Hilfe des hängenden Tropfens auf sterilisierten Deckgläsern bewährt. Selbst eine sich über mehrere Monate erstreckende Aufbewahrung der Flüssigkeiten in diesem Gerät führte zu keiner nennenswerten oder gar störenden Konzentrationsänderung derselben durch Verdunstung.

Zusammenfassung.

Es wird ein Gefäß zur Aufbewahrung steriler Flüssigkeiten mit der Einrichtung zur sterilen Tropfenentnahme derselben und dessen Handhabung beschrieben. Es dient als Hilfsgerät bei der Herstellung von Reinkulturausstrichen und hängenden Tropfen sowie bei der Anlage von Tröpfchenreinkulturen.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Diemair, W., Die Haltbarmachung von Lebensmitteln. Stuttgart (Verl. F. Enke) 1941. VIII u. 547 S., 137 Abb., 86 Tab., mit einem Geleitwort von B. Bleyer. Preis geb. 37,50, brosch. 35 RM.

Das auf eine Anregung B. Bleyers zurückgehende Buch wendet sich in erster Linie an Lebensmittelchemiker, an die Studierenden und an diejenigen, die beruflich an den Fragen der Haltbarmachung von Lebensmitteln mitzuarbeiten haben.

Behandelt werden in der Hauptsache Zusammensetzung und Nährwert, biochemische und biologische Veränderungen der Lebensmittel, ferner die verschiedenen Methoden der Haltbarmachung und ihre Anwendungsbereiche.

Die Darstellung geht in erster Linie von lebensmittelchemischen Gesichtspunkten aus und bringt hier neben dem, was an grundsätzlichem in Lehr- und Handbüchern zu stehen pflegt, auch zahlreiche Einzelheiten unter Berücksichtigung des ausländischen Schrifttums, zum Teil auch in Zusammenhang mit eigenen Forschungen des Verf.s und seiner Mitarbeiter.

Ergänzt wird die chemische Darstellung durch technologische Angaben, wobei allerdings dahingestellt bleiben mag, ob die bildliche Wiedergabe und Beschreibung zahlreicher in der Lebensmitteltechnik angewandter Maschinen und Apparate der richtige Weg ist, um den Leser, dem die Vorkenntnisse des Maschinenbaues und Apparatebaues fehlen, in die Technologie der Lebensmittel einzuführen. Von den 137 Abbildungen des Buches entfallen nicht weniger als etwa 75 auf dieses Gebiet. Hinzu kommen noch zahlreiche Zeichnungen und schematische Darstellungen zum gleichen Thema.

Demgegenüber kommt die in die verschiedenen Abschnitte eingestreute Behandlung grundlegender biologischer und mikrobiologischer Tatsachen und Vorgänge zweifellos zu kurz. So fehlt z. B. eine zusammenhängende Darstellung dessen, was aus der Histologie und Cytologie zum Verständnis der Vorgänge der Haltbarmachung vorausgesetzt werden muß. Dort, wo man es eigentlich sucht, im Abschnitt über Zusammensetzung und Beschaffenheit der Lebensmittel, finden sich fast ausschließlich chemische und biochemische Angaben. Die Reifungsvorgänge bei Früchten sind, abgesehen von einer kurzen Erwähnung im Abschnitt „Veränderungen während der Aufbewahrung“, im Abschnitt „chemische und biochemische Veränderungen bei der Kühllagerung“ besprochen — jedoch vermißt man bei diesen verwickelten Vorgängen besonders eine klare, übersichtliche Darstellung des Wesentlichen. Im Abschnitt über Kühllagerung sind auch die physiologischen Erkrankungen erwähnt. Der Versuch einer Gleichsetzung mit Viruskrankheiten (Tüpfelkrankheit, Oberflächenbrand) dürfte mindestens abwegig sein. — Für die Darstellung der Fleischreifung gilt dasselbe. Wir finden eine Reihe allgemeiner Angaben und eine Aneinanderreihung einzelner Tatsachen, jedoch keine von übergeordneten Gesichtspunkten ausgehende Darstellung des, wie auch hier wieder betont werden muß, nicht einfachen Stoffes.

Dieselben Einwendungen muß man auch gegenüber den Abschnitten machen, die sich mit den Mikroorganismen beschäftigen. Die Infektionsvorgänge im Zusammenhang mit der Gewinnung und Verarbeitung der Lebensmittel werden nur in einigen Fällen kurz behandelt. Die Beziehungen der Pilze und Bakterien zum Wassergehalt — (nicht die „reichhaltige Zusammensetzung“ schlechthin macht die leicht verderblichen Lebensmittel so

anfällig gegenüber dem Angriff von Mikroorganismen, sondern der hohe Wassergehalt!) — zur Reaktion und chemischen Zusammensetzung der als Nährsubstrat dienenden Lebensmittel hätten ebenfalls eine gründlichere Darstellung verdient, — um so mehr, als bei der Ausbildung der Lebensmittelchemiker die Mikrobiologie meist nur ungenügend berücksichtigt wird.

Ganz allgemein fällt in den biologischen Abschnitten die geringe Zahl von Abbildungen und kurvenmäßigen Darstellungen auf.

W. Schwartz (Karlsruhe).

Eidmann, H., Lehrbuch der Entomologie. Berlin (Verl. Paul Parey) 1941. 512 S., 366 Textabb. Geb. 24 RM.

Der neueste Stand der Kenntnisse auf dem Gesamtgebiet der Entomologie ist in dem Lehrbuch zusammengefaßt. Die Disposition ist folgende: Die systematische Einteilung der Insekten, Grundzüge der Organisation des Insektenkörpers, Habitus, Größe und Zahl der Insekten, Morphologie des Insektenkörpers und seiner Anhänge, Organe des Insektenkörpers und ihre Leistungen, die Fortpflanzung, Entwicklung, die Beziehungen der Insekten zur Umwelt (Ökologie) und schließlich das System der Insekten, mit ganz kurzem Literaturverzeichnis und mit Inhaltsangabe. Beachtung verdient vor allem der Abschnitt über die Beziehungen der Insekten zur Umwelt, welcher als Hauptarbeitsgebiet des Verf.s besonders ausgestaltet ist. Auch im übrigen ist das Lehrbuch ökologisch und soweit hier möglich durch Wahl wirtschaftlich wichtiger Formen als Beispiele angewandt entomologisch ausgerichtet. Das System der Insekten wird ergänzt und veranschaulicht durch ökologische und biologische Hinweise. Die Orientierung auf dem schwierigen Gebiet der Systematik der Insekten wird erleichtert durch Hervorheben charakteristischer Vertreter. Eine eingehende Berücksichtigung der Literatur liegt nicht im Sinne eines Lehrbuches. Das ganze Buch zeichnet sich durch gute, einheitliche Darstellung und ausgezeichnete Bilder aus, von denen viele Originale des Verf.s sind. Das umfangreiche Register macht das Lehrbuch zugleich zu einem Nachschlagewerk. Das Lehrbuch kann den Studierenden wärmstens empfohlen werden, es bildet auch für den auf theoretischem oder angewandtem Gebiet arbeitenden Entomologen eine wertvolle Übersicht seines Arbeitsgebietes. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Escherich, K., Die Forstinsekten Mitteleuropas. Ein Lehr- und Handbuch. Bd. 5. Lief. 3. S. 417—576. 163 Abb. Berlin (Verl. Paul Parey) 1941. Preis 13 RM.

Die 3. Lieferung beginnt mit den Goldwespen (Fam. Cleptidae und Chrysididae). Ihnen schließen sich die Dolchwespen (Scoliidae), Rollwespen (Tiphiidae) und Spinnen-Ameisen (Mutillidae) an. Die Ameisen (Formicidae) nehmen entsprechend ihrer hervorragenden forstlichen Bedeutung einen größeren Raum ein. Verf. ist selbst ein weltbekannter Ameisenforscher. Er vereinigt in sich die reichsten Erfahrungen auf dem Gebiet der Ameisenkunde und zugleich der Forstzoologie. Sein Urteil über die forstliche Bedeutung der roten Waldameise ist besonders wertvoll, zumal in letzter Zeit auch versucht wurde, den Nutzen der roten Waldameise als zweifelhaft hinzustellen. Der Nutzen der Ameisen als Bodenverbesserer, Verbreiter von Pflanzen und Vertilger schädlicher Insekten wird zusammengefaßt. Folgende Sätze des Verf.s von der Raubtätigkeit der roten Waldameise, über deren großen Nutzen nach seiner maßgeblichen Ansicht nicht der geringste Zweifel besteht, verdienen hervorgehoben zu werden:

„Durch die Ergebnisse der neueren Forschung wurde die Anschauung Ratzeburgs und vieler anderer Vorfahren nicht nur vollauf bestätigt, sondern darüber hinaus gezeigt, daß die forstliche Bedeutung der roten Waldameise noch weit größer ist als man früher angenommen hat. Ja, es besteht kein Zweifel, daß die rote Waldameise dort, wo ihre Kolonien häufig sind, und diese nicht gestört werden, durch ihre ununterbrochenen Insektenjagden unter Umständen das Aufkommen von Schädlingsgradationen zu hemmen imstande ist. Als vorbeugender Faktor gegen Gleichgewichtsstörungen im Insektenleben des Waldes steht die rote Waldameise mit an erster Stelle. Diese Erkenntnis muß Allgemeingut aller Waldbesitzer und Forstleute vom höchsten bis zum niedersten werden, und dementsprechend ist auch der wertvollen Helferin im Kampfe gegen unsere Waldverderber die größte Schonung und Pflege und jedweder Schutz zuzuwenden."

Als Folgerung aus dem hervorragenden Nutzen der roten Waldameise wird ihr Schutz und ihre künstliche Vermehrung dringend nahegelegt. Das Puppensammeln hat neben dem Gewinnen von Stallstreu und Ameisenspiritus die Hauptschuld an der Ausrottung der roten Waldameise. Auf neue Methoden der künstlichen Massenvermehrung der roten Waldameise wird hingewiesen. Außerordentlich interessant sind auch die folgenden Abschnitte über Grabwespen (Sphegidae), Wegwespen (Pompilidae), Faltenwespen (Vespidae, echte Wespen), Bienen (Apidae, Blumenwespen). Die Ordnung der Diptera (Zweiflügler) beginnt neu in der 3. Lieferung. Die Dipteren spielen forstlich eine größere Rolle als man früher annahm. Die erste Gruppe der Unterordnung Orthorapha nämlich, die Nematocera (Mücken), treten im Wald entweder als Pflanzenschädlinge (Fraß oder Gallbildung) oder als lästige Blutsauger an Mensch und Tier auf. Folgende Familien werden aufgeführt: Pilzmücken (Mycetophilidae), Haarmücken (Bibionidae), Gallmücken (Cecidomyidae). Diese nehmen wieder ihrer Bedeutung entsprechend einen besonderen Raum ein. Nach Lebensweise werden unterschieden: Zoophage, saprophage und phytophage Arten. Die forstlich beachtenswerten Cecidomyiden sind gruppiert nach Vorkommen an Laubholzpflanzen und an Nadelholz.

Auch diese mit Spannung erwartete Lieferung der Forstinsekten gibt Zeugnis von den reichen Erfahrungen des Verf.s und der ausgezeichneten wissenschaftlichen Durcharbeitung und Darstellungskunst.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Vogt, E., Jahresbericht 1939 des Staatlichen Weinbauinstituts in Freiburg i. Br.

Aus dem Tätigkeitsbericht der Anstalt seien hier nur die in pflanzenpathologischer Hinsicht interessanten Arbeiten erwähnt. Die Frage der Kupferersparnis im Weinbau wurde eingehend untersucht. Dabei zeigte sich, daß Aluminium-Brühe als Ersatz für Kupferbrühe nicht geeignet ist. Eine Herabsetzung des Kupfergehalts der Bordeauxbrühe bis 0,5% oder sogar 0,25% vermindert bei Zusatz von 0,5% Magnesiumsulfat deren Wirksamkeit gegen Peronospora nicht. Die Verwendung von Kupferoxychlorid-Präparaten setzt voraus, daß eine Steigerung ihrer Regenbeständigkeit erreicht wird. Die Mehltaubekämpfung mit Kolloidschwefel-Präparaten oder Schwefelkalkbrühe, die als Zusatz zur Kupferkalkbrühe angewandt wurden, zeigte gute Ergebnisse. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Rubentschik, L. I. und Rojsin, M. B., Einfluß von gebundenem Stickstoff auf Azotobacter. (Die Veränderlichkeit d. Mikroben und Bakteriophagie. 1939. Kiew. S. 165—169.) [Ukrainisch.]

Es wurden 2 Stämme von Azotobacter chroococcum isoliert, die durch eine Reihe von Passagen auf Medien mit steigenden N-Mengen (Pepton, KNO_3, $[NH_4]_2SO_4$ usw.) sich zur Entwicklung in Gegenwart von hohen Konzentrationen von Stickstoffverbindungen gewöhnten. Im weiteren verloren diese Stämme die Fähigkeit, freien Stickstoff zu fixieren. Verf. weist auf diese Erscheinung im Zusammenhang mit nichtaktivem Azotobakter und azotobakterähnlichen Bakterien im Boden hin.

M. Gordienko (Berlin).

Kiene, E., Über die Wirkung von Spurenelementen auf die Vermehrung der Hefe in einer synthetischen Nährlösung. (Vorratspfl. u. Lebensmittelforsch. Bd. 3. 1940. S. 446 bis 456.)

Die Notwendigkeit der Spurenelemente wurde zuerst für die höheren Pflanzen erkannt. In der Mikrobiologie wurde die Wirkung derselben erstmals an Aspergillus niger untersucht. Verf. machte es sich zur Aufgabe, die Bedeutung der Spurenelemente für die Vermehrung der Hefe zu studieren. Die Schwermetalle Fe, Zn, Mn, Cu und Mo wirkten sich in Richtung auf eine Ertragssteigerung der Hefe kaum aus, wenn der B-Wuchsstoff fehlte. Zusatz von 1 ccm Bierwürze zu schwermetallhaltigen Nährlösungen ergab starke Vermehrung der Hefe und Senkung der End-p_H-Werte. Das Fehlen von Cu, Mn oder Mo in der Nährlösung beeinflußte die Hefeerträge ebensowenig wie Mn bis zu 3 γ je 56 ccm Nährlösung. Dagegen erwiesen sich Cu und Mo schon in niedrigsten Konzentrationen ertragssenkend. Noch ausgeprägter waren Ertragssenkungen bei Fehlen von Fe und Zn und Steigerungen der Erträge bei Vorhandensein derselben. Das Optimum der Fe-Wirkung liegt bei 4—5 γ, das der Zn-Wirkung bei 4—6 γ. Stets ist aber eine Vermehrung der Hefe in erster Linie an das Vorhandensein einer entsprechenden Menge B-Wuchsstoff gebunden. *Kühlwein (Karlsruhe).*

Stafijschuk, A. A., Veränderung der Zusammensetzung der Aminosäuren von Hefen bei der Trocknung. (Holzchemische Industrie. Bd. 3. Nr. 7. 1940. S. 11—14.) [Russisch.]

Bei der Trocknung der Hefen finden infolge der fermentativen Prozesse in diesen Veränderungen der für das Leben der Hefen notwendigen Aminosäuren statt. Erhöhte Temperatur bei der Trocknung kürzt die Dauer der fermentativen Einwirkung und setzt so die Verluste an Aminosäuren herab. Monilia murmanica zeigt in bezug auf den Gehalt an Aminosäuren keine Unterschiede gegenüber Bier- und Backhefen (mit Ausnahme von Lysin, dessen Gehalt in den letzteren bedeutend höher ist).

M. Gordienko (Berlin).

Knobloch, H., Über die Umwandlung von Acetaten durch Aspergillus niger in submerser Kultur. (Biochem. Ztschr. Bd. 307. 1941. S. 278—284.)

Die von Kluyver und Perquin eingeführte Methode der Schüttelkultur wurde bei der Untersuchung der Acetatumwandlung durch Aspergillus niger angewandt. Das im Substrat homogen verteilte Myzel gestattet eine gleichmäßigere Versuchsdurchführung. So wurde ermittelt, daß Acetate für Aspergillus niger als alleinige Kohlenstoffquelle dienen können. Jedoch verhalten sich einzelne Stämme des Pilzes sehr verschieden. Aus dem Acetat werden so neben Oxalsäure und Kohlen-

säure Bernstein-, Glykol- und Glyoylsäure gebildet. Wenn gleichzeitig Zucker geboten wird, greift der Pilz in submerser Kultur auch Oxalat und Formiat an.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Bernhauer, K., Iglauer, A. und Knobloch, H., Über die Säurebildung aus Zucker durch Aspergillus niger. IX. Mitteilung: Sporenlagerung und Säurebildung. (Biochem. Ztschr. Bd. 307. 1941. S. 293—297.)

Wenn die Pilzkulturen in trockenem Zustand längere Zeit aufbewahrt werden, dann vermindert sich die Keimfähigkeit der Sporen, während das Säurebildungsvermögen nicht leidet. Die Keimfähigkeit ändert sich aber im Verlauf von zwei Jahren nicht, wenn die Sporen getrennt vom Myzel aufbewahrt werden. Auch die Säuerungsfähigkeit bleibt ungefähr die gleiche. Deshalb wird empfohlen, Aspergillus niger-Kulturen in Form reifer, abgeernteter Konidien aufzubewahren. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Bernhauer, K., Iglauer, A. und Knobloch, H., Über die Säurebildung aus Zucker durch Aspergillus niger. X. Mitt.: Der Einfluß der Zuckersorte auf die Zitronensäurebildung. (Biochem. Ztschr. Bd. 307. 1941. S. 298—306.)

Durch den gleichen Aspergillus niger-Stamm werden verschiedene Sorten Rübenzucker verschieden schnell und mit verschieden großen Ausbeuten zu Zitronensäure vergoren. Ein bestimmter Rohzucker übte auf die Zitronensäurebildung eine deutlich stimulierende Wirkung aus, die wahrscheinlich auf einem anorganischen Bestandteil dieses Zuckers beruht. Sehr günstig für die Zitronensäurebildung erwies sich ein Zusatz von 1/100—2/100 n HCl zur Nährlösung, die höchstens 22,5% Zucker enthalten soll.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Mikrobielle Wirkstoffuntersuchungen.

Karrer, P., Die Vitamine der Hefe. (Schweizer Brauerei-Rundschau. Bd. 52. 1941. S. 61—66.)

Die Hefe ist ein Organismus, in dem kaum eines der heute bekannten Vitamine fehlt; die Mengen dieser Wirkstoffe sind allerdings sehr ungleich. Die fettlöslichen Wachstumsfaktoren finden sich in ihr höchstens in Spuren, das antiskorbutische Vitamin C nur in unbedeutenden Mengen. Über das Vorkommen des Fruchtbarkeitsvitamins E und des antihaemorrhagischen Vitamins K ist noch wenig bekannt, dagegen enthalten Hefen bedeutende Mengen eines Provitamins D, Ergosterin, das durch Bestrahlung in das antirachitische Vitamin Calciferol übergeht. Besondere Bedeutung besitzen für die Hefe aber die wasserlöslichen Vitamine der B-Gruppe: B_1, Aneurin, B_2, Laktoflavin, B_6, Adermin und Nikotinsäureamid. Aus den Strukturformeln der näher bekannten Vitamine ist ersichtlich, daß diese Wirkungsfaktoren chemisch ganz verschiedenen Gruppen angehören. Vitamin B_1 ist ein Bestandteil der Wirkungsgruppe des Ferments Carboxylase, die aus dieser Wirkungsgruppe und einem Proteinanteil besteht. Die Wirkungsgruppe wurde als Pyrophosphorsäureester des Vitamins B_1 erkannt. Vitamin B_2 ist ein Bestandteil der Wirkungsgruppen der sog. gelben Fermente, die bei Dehydrierungsreaktionen eine Rolle spielen. Auch das Nikotinsäureamid gehört gewissen Fermentsystemen an, nämlich den dehydrierenden Enzymen Cozymase oder Codehydrase I und Codehydrase II.

Bei der Gärung durch Hefe wird das Zuckermolekül in einem kompli-

zierten Mechanismus über viele Zwischenstufen schließlich bis zu den Endprodukten Alkohol und Kohlensäure abgebaut. Die einzelnen Teilvorgänge werden durch das Eingreifen von Fermenten ausgelöst, deren Wirkungsgruppen Vitamine sind. An Hand des Gärungsschemas erklärt Verf. die verschiedenen Vorgänge und damit die Bedeutung der in der Hefe hauptsächlich auftretenden Vitamine für diesen Organismus. Die Vitamine lassen sich durch bestimmte Reaktionen nachweisen, sie üben z. T. eine ausgesprochene Heilwirkung bei einer Reihe von Mangelkrankheiten aus. Eine Anzahl von ihnen ist auch schon auf künstlichem Wege hergestellt worden.

Heuß (Berlin).

Fink, H. und **Just, F.**, Über den Vitamin B_1-Gehalt von Malzbieren und seine Ermittlung. III. Mitt. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 58. 1941. S. 171—175.)

Unter Verwendung von untergäriger Hefe wurde im praktischen Versuch gezeigt, daß man durch frühzeitiges Schlauchen (15% scheinbare Vergärung) fast den gesamten Vitamingehalt der Bottichhefe ins Malzbier bekommt, nämlich 140 γ je Flasche von ⅓ l, ohne daß weitere Hefe zugesetzt wurde. Ein anderer Versuch wurde mit 3½tägiger Bottichhauptgärung und anschließender Tankgärung bzw. Tanklagerung durchgeführt. Die Hefe setzte sich dabei weitgehend ab, als alleinige Vitaminquelle kam nur mehr der geringe, für die Flaschengärung notwendige Zusatz von Hefe in Betracht. Der Vitamingehalt dieses erheblich höher vergorenen Malzbieres betrug nur 8—10 γ je Flasche. Die Vitaminbilanz ist in der Phase der Bottichgärung unabhängig von Gärdauer und Hefevermehrung mit +10 bis 17% schwach positiv. In den übrigen Phasen ist sie ausgeglichen, d. h. es tritt dabei weder eine Abnahme noch eine Zunahme in der vorhandenen Vitamin B_1-Gesamtmenge ein.

Heuß (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Lembke, A., Rickert, G. und **Thomsen, H.**, Über den Einfluß von ultraviolettem Licht auf Mikroorganismen, die für die Bereitung verschiedener Nahrungsmittel von besonderer Bedeutung sind. (Vorratspflege u. Lebensmittelforsch. Bd. 3. 1940. H. 11/12. S. 534—584.)

Mit einem UV-Normal (Hg-Dampf-Hochdrucklampe aus Quarzglas) wurde unter physikalisch genau definierten Bedingungen der Einfluß von ultravioletten Strahlen auf Penicillium caseicolum Bainier, P. roqueforti, P. gorganzola, Oospora lactis, zwei Torulopsis-Stämme, Bact. prodigiosum, Bact. fluorescens, Bact. pyocyaneum und ein Mycobacterium untersucht.

In Übereinstimmung mit anderen Forschern fanden die Verff., daß der wirksame UV-Bereich unterhalb 3030 A liegt. Die Empfindlichkeit der ein zelnen Arten von Mikroorganismen erwies sich als verschieden. Unter Verwendung der Gesamtstrahlung des UV-Normals wird ein Überlebendenverhältnis von 0,1 erzielt durch 180 Erg/mm² bei Bact. prodigiosum, durch 190 Erg/mm² bei Bact. pyocyaneum, durch 240 Erg/mm² bei Bact. fluorescens, durch 1060 Erg/mm² bei Mycobacterium sp.

Die keimtötende Wirkung des UV wird beeinflußt durch zahlreiche Faktoren, wie Art der Vorzüchtung (Beschaffenheit des Nährbodens, p_H, Temperatur), Dauer der Aufbewahrung zwischen Aussaat und Bestrahlung, Temperatur während der Bestrahlung.

Farbstoffbildung, Wuchsform, Säurefestigkeit, Färbbarkeit können durch eine UV-Behandlung verändert werden. Hier ergeben sich vielleicht Anhaltspunkte für eine Erforschung der Wirkungsweise des UV. Stickoxyde (Ozon) sollen nach Versuchen mit Bakterien als Ursache der Abtötung nicht in Frage kommen.

Versuche mit Suspensionen von Mycobacterium unter Verwendung röhrenförmiger Hg-Dampf-Niederdrucklampen haben gezeigt, daß der Betriebsstoffwechsel, gemessen an der Atmungsintensität, zunächst noch fortläuft, wenn die Zellen ihre Vermehrung infolge der vorhergegangenen UV-Behandlung eingestellt haben oder vielleicht schon abgetötet sind; Bact. prodigiosum verhielt sich ähnlich.

Zum Bunsen-Roscoe-Gesetz bemerken Verff., daß sie seine „strenge Gültigkeit" nicht nachweisen konnten. Ref. fand zusammen mit Dr. Zeiser, allerdings unter ganz anderen Versuchsbedingungen, keine Gültigkeit des Gesetzes, sondern eine eindeutige Zunahme der Abtötung mit steigender Intensität bei unverändertem Produkt aus Intensität und Einwirkungsdauer. Im Schrifttum sind die Ansichten geteilt; die Mehrzahl der Stimmen spricht sich für die Gültigkeit des Bunsen-Roscoeschen Gesetzes aus.

Mit der Feststellung, daß eine UV-Vorbehandlung des Nährbodens ohne Einfluß auf das Wachstum später aufgeimpfter Bakterien und Pilze sei, stehen Verff. im Gegensatz zu den von ihnen nicht erwähnten Resultaten von Blank und Arnold (Journ. Bact. Vol. 30. 1935), ferner von Baumgartner (Journ. Bact. Vol. 32. 1936), der mit 2357 Å die von den ersten beiden Forschern festgestellte hemmende Nachwirkung auf Bac. subtilis und Bact. (Escherichia) coli bestätigte und auf eine Säurebildung in der bestrahlten Zuckerlösung oder dem Agargel zurückführte. Die amerikanischen Autoren erzielten ihre Ergebnisse nach einer mehrstündigen UV-Behandlung, während Lembke und seine Mitarbeiter bei den Versuchen mit Pilzen — bei denen ja an sich schon eine Schädigung wegen der größeren Säuretoleranz weniger wahrscheinlich gewesen wäre — das Substrat nur während 2,5—80 Sek. vorbehandelten. *W. Schwartz (Karlsruhe).*

Stille, B., Über die Wirkung ultravioletter Strahlen auf den Verlauf des Wachstums von Bakterien auf Fleisch. Vorratspflege u. Lebensmittelforsch. Bd. 4. 1941. H. 3/4. S. 233—240.

Versuche mit Hg-Dampf-Niederdrucklampen unter Verwendung von ganzen Rindermuskeln und zylindrischen Versuchsstücken, die durch Eintauchen in eine Aufschwemmung von Ps. liquefaciens infiziert worden waren, haben bei kurzfristiger und langdauernder Bestrahlung keine wesentliche Verbesserung der Haltbarkeit unter Kühlhausbedingungen ergeben. Bei höheren Lagertemperaturen, etwa $+15^{\circ}$ C und $\varphi = 90$—95%, läßt sich durch gleichzeitige UV-Anwendung die Haltbarkeit von 32 auf 48 bzw. 60 Std. verbessern. Dieser Zeitgewinn reicht aus, um einen Ablauf der Reifungsvorgänge bis zur Erzielung eines besonders zarten Fleisches, ungehindert durch bakterielle Vorgänge, zu ermöglichen.

Eine völlige Entkeimung der Fleischoberfläche gelingt wegen der geringen Tiefenwirkung nicht, selbst wenn alle Teile der Oberfläche gleichmäßig bestrahlt werden können. Auf der im Schatten befindlichen Seite macht sich die UV-Wirkung in einer, wenn auch schwächeren Keimsenkung bemerkbar,

was Verf. auf die Wirksamkeit diffuser reflektierter UV-Strahlen und auf den Ozongehalt der Luft zurückführt.

Die Keimsenkungen erreichen bestenfalls 80—90%, bewegen sich also in der Größenordnung einer Zehnerpotenz. Die zurückbleibenden Keime zeigten selbst bei Dauerbestrahlung ungehinderte Vermehrung; eine Nachwirkung, etwa im Sinne einer Verschlechterung der Ernährungsverhältnisse auf dem bestrahlten Fleisch, konnte also nicht festgestellt werden.

W. Schwartz (Karlsruhe).

Panassenko, W. T. und Tatarenko, Je. S., Psychrotolerante Pilzflora bei Nahrungsmitteln. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 6. 1940. S. 579—584.) [Russisch.]

Der weitaus größte Teil der von verschiedenen in Kältekammern lagernden Lebensmitteln (Fleisch, Obst usw.) isolierten Schimmelpilze erwies sich als zur Gattung Penicillium gehörend. Als Infektionsquelle könnten die in der nächsten Umgebung von Kältekammern liegenden Räume mit ziemlich hoher Temperatur, in denen Wände, lagerndes Verpackungsmaterial usw. von den Pilzen reichlich befallen sind, in Frage kommen. Versuche mit isolierten Penicillium-Arten zeigten, daß sie typische psychrotolerante Pilze darstellen, und daß die minimale Temperatur für ihre Entwicklung unter 0°, für einige (wie Penicillium puberulum Bainier, Penicillium chrysogenum Thom. usw.) sogar bei —4° liegt. Für die meisten Aspergillus-Arten liegt die minimale Temperatur um +6—12°, und nur einzelne von ihnen (Aspergillus amylovorus Panassenko u. a.) können noch bei +2—3° sich entwickeln. Bei der Bekämpfung der Schimmelpilze erzielte man gute Resultate mit Essigsäure in einer Konzentration von 0,5%; bei ihrer Anwendung ist jedoch wichtig, daß die Räume keinen Kalkputz haben. *M. Gordienko (Berlin).*

Schnegg, H., Beitrag zur Lösung der Leichtbierfrage. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 64. 1941. S. 97—102.)

Die bisherigen Arbeiten zur Herstellung eines den Anforderungen der Reichsgesundheitsführung gerecht werdenden Volksgetränks bewegten sich im allgemeinen entweder in der Verwendung besonderer Hefen und anderer Organismen oder auf der Grundlage der obergärigen Süß- und Einfachbiere oder unter strikter Einhaltung des Reinheitsgebotes. Bei Verwendung besonderer Hefen kam Verf. zu Erzeugnissen, die geschmacklich nicht voll befriedigten, neuere Produkte sind aber in dieser Hinsicht besser gelungen, zumal man inzwischen Mittel und Wege gefunden hat, den in solchen Fällen meist noch vorhandenen, rohen Würzegeschmack weitgehend zu vermindern. Betriebsbiologisch ist aber das Arbeiten innerhalb eines Betriebes mit verschiedenen Organismen wegen der Möglichkeit der gegenseitigen Infektion mit Schwierigkeiten verbunden. Leichtbiere auf der Grundlage der Malz- und Süßbiere dürften geschmacklich nicht in allen Reichsteilen entsprechen, solche unter Benutzung besonderer Rohstoffe, wie Zuckerrübenschnitzel oder Molke kaum überall herzustellen sein. Ein dem allgemeinen Geschmacksempfinden gerecht werdendes Volksgetränk kann unter strenger Einhaltung des Reinheitsgebotes hergestellt werden. Verf. ging bei seinen Versuchen von der Überlegung aus, daß ein Leichtbier mit dem vorgeschriebenen, 0,5% nicht übersteigenden Alkoholgehalt, aber entsprechender Vollmundigkeit und diätetischen Eigenschaften wohl am besten durch ein kombiniertes Herstellungsverfahren herzustellen sei, dessen einer Teil aus einem normal ver-

gorenen Bier, dessen anderer Teil aus unvergorener Würze bestehe. Von dem ersten Teil werden neben dem Alkohol die durch die Gärung erst entstehenden Geschmacksstoffe geliefert, von dem zweiten der für den diätetischen Wert des fertigen Produktes notwendige Extrakt beigesteuert. Die passende Grundlage bildet ein etwa 10proz. Bier mit niedrigem Endvergärungsgrad, genügend hoch vergoren und gut gelagert, das mit unvergorener Würze in entsprechendem Verhältnis gemischt wird, die durch eine Behandlung mit Aktivkohle von ihren unangenehm wirkenden Geschmacksstoffen befreit wurde. Das Verfahren läßt allen Geschmacksrichtungen freien Spielraum, die Haltbarkeit derartiger Produkte ist besser, als man erwartet hatte, auffallend gut ist auch die Eiweißbeständigkeit dieser Biere. Wenn man vom Reinheitsgebot abgehen will, kann man nach dem Ergebnis besonderer Versuche diese Biere durch biologische Säuerung der Würze geschmacklich weiter verbessern. *Heuß (Berlin).*

Lüers, H., Leichtbierversuche. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 58. 1941. S. 175—176.)

Ähnlich wie H. Schnegg kam auch Verf. durch Verschneiden von fertigem Bier mit gehopfter, durch Adsorptionskohle Purocarbon C geschmacklich verbesserter Würze zu brauchbaren, dem Reinheitsgebot entsprechenden bierähnlichen Getränken. Das Verschnittverhältnis ist einerseits durch den Alkoholgehalt des normalen Bieres und andererseits durch die Festlegung einer oberen Grenze von 0,5% für den Alkoholgehalt des Endproduktes gegeben. Je geringer nun das Verschnittverhältnis ist, desto mehr kommt der Biercharakter zum Ausdruck. Nach Ansicht von Verf. ist für Leichtbiere eine Stammwürze von 6—7% ausreichend. Wenn man solche Würzen mit Purocarbon behandelt, mit Hopfen kocht und mit einer hohen Hetengabe (2 kg/hl) kurz vergärt, dann entstehen gleichfalls Getränke im Sinne des Reinheitsgebotes mit niedrigem Alkoholgehalt. Allgemein betrachtet ist der p_H-Wert solcher Getränke nicht günstig, was sich auch geschmacklich bemerkbar macht. Verf. machte aus dieser Erkenntnis heraus Versuche zur Verschiebung des p_H nach der sauren Seite. Der einfachste Weg ist die Zugabe von organischen Säuren, beispielsweise Zitronensäure, bei 6—7proz. Würzen ist ein p_H von etwa 4,7 anzustreben. Die gewünschte p_H-Verschiebung läßt sich auch durch eine auf biologischem Wege total gesäuerte Würze erreichen. Verf. benutzte zu entsprechenden Versuchen eine Reihe von milchsäurebildenden Bakterien aus dem Molkereigewerbe und aus verschiedenen Sauerteigproben. Mit anderen Organismen entstehen meist Getränke, die mehr an Limonade als an Bier erinnern. Dies war beispielsweise der Fall bei Versuchen mit Laurerohefe, Zygosaccharomyces mongolicus oder Saccharomyces unisporus. Über die biologische Haltbarkeit dieser an vergärbarem Extrakt sehr reichen Leichtbiere sind die Erfahrungen nicht einheitlich. *Heuß (Berlin).*

Kliemann, K., Zur biologischen Säuerung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 58. 1941. S. 169—170.)

Die biologische Säuerung mit Bacillus Delbrücki ermöglicht die Schaffung von Aziditätsverhältnissen ohne Rücksicht auf die Beschaffenheit des Brauwassers und die Säureverhältnisse des Malzes. Man kann die Maische oder die Würze säuern, es ist aber zu beachten, daß durch die Säuerung die Aktivität der eiweißspaltenden Enzyme erhöht wird. Wenn man

den verstärkten Eiweißabbau vermeiden will, neutralisiert man die Karbonate des Einmaischwassers zweckmäßig nicht restlos bzw. gibt bei Brauwässern mit geringerer vorübergehender Härte die Säurewürze erst bei den Verzuckerungstemperaturen. Ein p_H von 4,4—4,5 im fertigen Bier genügt bei entsprechender Vergärung als Schutz gegen eine Sarzina-Infektion. Dazu genügt unter normalen Verhältnissen ein p_H von 5,4 in der Ausschlagwürze, eine Verschiebung über diesen Wert hinaus ist für den Geschmack des Bieres nachteilig. Die künstliche Säuerung erfordert die laufende Überwachung der p_H-Verhältnisse von Würze und Bier, weil Änderungen der Gerstenjahrgänge und Malzqualitäten die Pufferungsverhältnisse beeinflussen und unter anderem den Bittergeschmack in Mitleidenschaft ziehen. *Heuß (Berlin).*

Mikrobiologie der Gespinstpflanzen usw.

Tschepkina, T. W., Untersuchungs- und Bekämpfungsmethoden von Endoparasiten der Baumwollfaser. (Berichte d. Akad. d. Wiss. SSSR., biolog. Serie. Nr. 2. 1940. S. 164—179.) [Russisch.]

Untersuchungen zeigten, daß die Kotyledonen der Baumwollsamen durch Bakterien und Pilze infiziert werden können. Aussaaten mit „tief" gebeiztem Saatgut (mit Sublimat, Germisan usw.), die in verschiedenen Gegenden mit mehreren Baumwollsorten vorgenommen wurden, ergaben folgende Resultate: die Kotyledonen der Keimlinge auf den Kontrollparzellen zeigten in 40—100% der Fälle Flecke, während auf den mit gebeiztem Saatgut bestellten Parzellen die Flecke vollständig fehlten bzw. nur in geringem Maße vorkamen. Faseruntersuchungen der Versuchspflanzen zeigten, daß diese von Pilzen befallen waren. Als sekundäre Infektionsquellen kommen Boden bzw. Insekten in Frage. Qualitativ waren am besten Fasern von den Parzellen, die mit dem mit Germisan bearbeiteten Saatgut bestellt waren.

M. Gordienko (Berlin).

Berezowa, E. F., Über die Rolle von Bac. amylobacter bei der Flachsentwicklung. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 9/10. 1940. S. 813—822.) [Russisch.]

Flachskultur (als Monokultur) trägt zur Bakterienentwicklung im Boden bei, besonders der Ammonifikatoren, Denitrifikatoren und anaeroben stickstoffixierenden Bakterien. Bac. amylobacter bewirkt eine Erhöhung des Flachsertrages, wobei das Strohgewicht steigt, während das Samengewicht sich verringert. Produkte des Metabolismus von Bac. amylobacter (Aceton, Butylalkohol, Buttersäure) bewirken in geringer Konzentration eine Ertragssteigerung des Flachses, die wahrscheinlich durch den Reiz der Pflanzenzellen bedingt wird, in größerer Dosis aber unterdrücken sie die Kultur; auch wird durch diese Produkte das Verhältnis Stroh : Samen beeinflußt. Die Einbringung von Bac. amylobacter in den Boden nach Mineraldüngung bewirkt eine bedeutende Ertragssteigerung beim Flachs, bei Mangel an assimilierbarem Stickstoff bewirkt sie aber Ertragsminderung. *M. Gordienko (Berlin).*

Bytschkowskaja, A. L., Das Verhalten der Erreger anaeroben Flachsweichens gegenüber Stärke. (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 6. 1940. S. 570—577.) [Russisch.]

Bac. felsineus und Granulobacter pectinovorum besitzen die Fähigkeit, Stärke zu vergären; dabei ist die Energie der Vergärung

bei dem Bac. felsineus bedeutend höher als bei dem Granulobacter pectinovorum. Bac. felsineus maceriert Kartoffeln (rohe) in Gegenwart und ohne Kreide und vergärt dabei teilweise Stärke. Bei Versuchen wurde aus den Kartoffeln bis zu 50% Stärke unter Bildung von großen Mengen von flüchtigen Säuren und unter Dominierung von Butter- über Essigsäure vergoren. Granulobacter mazeriert Kartoffeln nur in Gegenwart von Kreide. Durch kombinierte Einwirkung von Bac. felsinus und Granulabacter pectinovorum wird die Mazeration der Kartoffeln sowie die Säurebildung verstärkt.

M. Gordienko (Berlin).

Makrinow, I. A., Eigenschaften des aeroben Gärverfahrens und seine Bedeutung für die gegenwärtige Mikrobiologie. (Natur. H. 9. 1940. S. 54—65.) [Russisch.]

Es wird der Biochemismus der aeroben Gärung von Pektinstoffen der Faserpflanzen mit dem der anaeroben Gärung verglichen. Das Verhalten der Mikroflora bei der aeroben Gärung ist ganz anders als bei der anaeroben Gärung: im ersteren Falle vermehren sich die spezifischen Mikroben auf den Stengeln der Pflanzen schon von Beginn des Weichprozesses an und verdrängen rasch die Nebenmikroflora, wodurch der gesamte Weichprozeß bedeutend beschleunigt wird. Fermente häufen sich bei der anaeroben Gärung im Weichwasser, bei der aeroben Gärung dagegen auf den Stengeln der Pflanzen, was auch zu der Intensivierung des Weichprozesses beiträgt. Im ganzen stellt der anaerobe Weichprozeß in bezug auf seinen Biochemismus, Schnelligkeit des Ablaufs usw. einen anormalen Prozeß dar, während der aerobe sich durch günstige Bedingungen kennzeichnet. *M. Gordienko (Berlin).*

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Klages, A., Über moderne Saatbeizmittel. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 54. 1941. S. 379.)

Die für Roggen, Weizen, Gerste und Hafer verwendeten Saatgutbeizmittel kommen in Form von Tauch-, Benetzungs- und Trockenbeize zur Anwendung. Dabei liefert die Tauchbeize zwar die zuverlässigsten Resultate, der erforderlichen Nachtrocknung des Saatgutes wegen ist sie aber in zunehmendem Maße durch die Trockenbeize verdrängt worden. Für Roggen und Weizen betragen die Kosten 0,50—0,60, für Hafer und Gerste 0,60 bis 0,80 RM. Der Bedarf je Tonne Getreide beträgt 2—3 kg. Nach früherer Auffassung war für jede Getreideart ein besonderes Beizmittel erforderlich, heute gibt es nur noch vier Universalbeizmittel, die sich für alle Getreidearten sowohl in der Naß-, als auch in der Trockenbeize eignen. Sie enthalten komplexe Quecksilberverbindungen. In früheren Zeiten wurden Quecksilberverbindungen der Phenole verwendet, heute handelt es sich um wirksamere komplexe Quecksilberverbindungen von aliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffen vom Typus $Hg<^{R}_{X}$, in denen R = ein Alkyl, Oxyalkyl, Aryl und X = Hydroxyl oder ein salz- oder komplexsalzbildendes Anion, z. B. ein anorganischer oder organischer Säurerest ist. *Heuß (Berlin).*

Daxer, H., Über die Abhängigkeit der Spritzmittelschäden von Temperatur und Jahreslauf. (Anz. f. Schädlingskunde. Bd. 17. H. 2. S. 13—20; H. 3. S. 26—35. 1941.)

Bei Anwendung von Kupfersulfatlösung treten die geringsten Schäden

an Buschbohnen als Testpflanzen bei 8—15° C Versuchstemperatur auf. Der Anstieg der Schäden verläuft bis etwa 20° C gemäßigt, zwischen 20° und 30° C wird er steiler. Niedere Temperatur von 2—3° C ruft hohe Schäden hervor, die über den bei 20° C verursachten Schäden liegen und bei längerer Einwirkungszeit noch manchmal über die 30° C-Schäden hinausgehen. Versuche mit Kalkarsenataufschwemmung verliefen annähernd ebenso. Die Verbrennungen werden noch durch die Verdunstungsgeschwindigkeit beeinflußt. Starke Schäden treten auf bei 20—30° C und hoher Luftfeuchtigkeit, sehr geringer Temperatur (2—5° C) und hoher Luftfeuchtigkeit. Mit abnehmender Luftfeuchtigkeit verringern sich die Schäden, sie werden am geringsten bei mäßiger Temperatur (8—15° C) und geringer Luftfeuchtigkeit. Daher sollte bei mäßiger Temperatur und rascher Verdunstung gespritzt werden. Ein Einfluß des Lichtes war auf den Grad der Verbrennungen nicht festzustellen. Die Jugendempfindlichkeit von Kern- und Steinobstarten wird von einer Zeit erhöhter Resistenz abgelöst. Gegen Ende des Sommers macht sich eine stark ausgeprägte Altersempfindlichkeit bemerkbar. Sortenunterschiede sind vorhanden. Die Empfindlichkeit der Blätter wird durch starke Niederschläge, besonders im Hochsommer und Frühherbst gesteigert. Nach Witterungsperioden mit starken Niederschlägen im Sommer ist deshalb mit Verbrennungsschäden nach dem Spritzen zu rechnen.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Waeser, B., Die Bekämpfung von Pflanzenschädlingen mit chemischen Mitteln. (Chemiker-Ztg. Bd. 65. 1941. S. 9—11.)

Verf. sieht davon ab, eine Aufzählung der Chemikalien zu bringen, die auf den Gebieten des Wein- und Obstbaues, der Gemüse- und Forstkulturen oder der Ackerwirtschaft empfohlen worden sind, er ist vielmehr bestrebt, einige Richtlinien der künftigen Entwicklung aufzuzeigen. Erschwert ist das Problem vor allem dadurch, daß der Begriff der Schädlingswirksamkeit nicht eindeutig zu fassen ist. Die Systematik organischer Schädlingsbekämpfungsmittel liegt bis heute noch sehr im argen. Interessante Parallelen zwischen Spurenelementen, Heteroauxinen sowie Schädlingsmitteln beginnen sich eben erst abzuzeichnen. *Heuß (Berlin).*

Bandt, H.-J., Über die Giftwirkung von Dinitroorthokresol-Präparaten und von „Nemotan" auf Fische. (Anz. f. Schädlingskunde. Bd. 17. 1941. H. 1. S. 7—9.)

Auf die Möglichkeit einer Gefährdung von Fischen bei der Verwendung von Dinitroorthokresol-Präparaten wird hingewiesen. Als Ersatz wird „Nemotan" empfohlen, das nicht nur für Mensch, Warmblüter und Pflanzen unschädlich, sondern auch gegenüber Fischen weniger giftwirkend ist.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Plantesygdomme i Danmark 1939. (Oversigt, samlet ved Statens Plantepatologiske Forsøg.) [Mit engl. Zusfassg.]

Der Bericht über das Auftreten von Krankheiten und Schädlingen in Dänemark für das Jahr 1939 nennt u. a. schwere Schäden an Mangold und Zuckerrüben durch Actinomyces und stärkeren Befall der Samenrüben durch Rhizoctonia violacea. Puccinia graminis trat trotz starker Verbreitung in den Vorjahren nur vereinzelt auf. Phoma medicaginis wurde erstmalig an Luzerne beobachtet. Von den zahlreichen erwähnten tierischen Schädlingen seien nur die Blutlaus, die in Dänemark an Bedeutung zunimmt, und Tipula - Larven genannt. Ferner führt

der Bericht einige physiologische Krankheitserscheinungen an. wie Bor-, Kupfer- und Manganmangel. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Börner, C., und Schilder, F. A., Die Verbreitung der Reblaus in Deutschland nach dem Stande des Jahres 1940. (Beil. z. Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 1—12.)

Die Reblausbekämpfung konnte im Berichtsjahre nicht in friedensmäßiger Weise durchgeführt werden. Die Gesamtzahl der verseuchten Gemarkungen beträgt nunmehr 454. Meldungen über erstmalige Verseuchung liegen aus 8 Gemarkungen vor. 6 Gemarkungen, die früher verseucht waren, gelten als seuchenverdächtig. Die kurzrüßlige Reblausrasse wurde in sieben badischen Revieren angetroffen. In Württemberg scheint sie ausgelöscht zu sein. An den übrigen Stellen des Altreichs war nur die langrüßlige Rasse vertreten. In der Ostmark und im Elsaß sind Blattrebläuse beider Rassen festgestellt worden. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und Viren.

Neergaard, P., Seed-borne Fungous Diseases of Horticultural Plants. (Comptes-rendus Associat. Int. d'Essais de Semences. Nr. 1. 1940. p. 47—71.)

Verf. hat die mit dem Samen übertragbaren, an Gartenpflanzen pathogenen Pilzarten zusammengestellt. Die Aufzählung erfolgt 1. nach den Wirtspflanzen und 2. nach der Zugehörigkeit zum Pilzsystem. Angaben über die Häufigkeit und Stärke des Auftretens der einzelnen Krankheiten und ein umfangreiches Literaturverzeichnis vervollständigen die Übersichten.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Foex et Rosella, Un Sclerotium parasite du blé. (Ann. Sci. Nat. Bot. 1937. 10. Ser. p. 221—231.)

Es wird eine Erkrankung des unteren Stengelteiles von Weizen und Gerste beschrieben, bei der sich eine mit kleinen Sklerotien besetzte Einsenkung des Stengelgewebes zeigt. In den Parenchymzellen wurde Myzel festgestellt. Wenn der Befall im Jugendzustand einsetzt, geht die Pflanze rasch zugrunde und bedeckt sich ganz mit Sklerotien. Durch Infektionsversuche wurde die Pathogenität des Pilzes nachgewiesen, der unter dem Namen Sclerotium Constantini Foex et Roselle beschrieben wird.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Goidanich, G., Una nuova, grave malattia dell' insalata in Italia: il marciume da „Sclerotinia minor" Jagg. (Ren. R. Acc. Italia. Ser. VII. Vol. 1. 1939. p. 70—73.)

Sclerotinia minor, ein aus vielen Ländern bekannter Schädiger des Salates wurde auch in Italien beobachtet. Verf. beschreibt das Krankheitsbild und gibt als optimale Temperatur für die Entwicklung des Pilzes 22° an. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Goidanich, G., Il marciume dell' insalata causata da „Sclerotinia minor" Jagg. (Boll. Patolog. veg. Roma. An. 19. 1939. p. 1—44.)

Sclerotinia minor befällt den Salat erst kurz vor der Ernte, wobei die äußeren Blätter zuerst erkranken. Der Verfall der Pflanzen geht unter Entwicklung zahlreicher kleiner Sklerotien sehr rasch. Eine Apothezienbildung wurde nicht beobachtet. Der Pilz entwickelte auf Möhrenagar Mikro-

konidien. Die Ausbreitung des Myzels und die Sklerotienbildung wurden auf einer Reihe von Nährböden geprüft. Anzahl und Größe der Sklerotien sind je nach dem Nährsubstrat einigen Schwankungen unterworfen. Als Temperaturoptimum wurde 20—22° ermittelt, das Maximum liegt bei 35° und das Minimum bei 3—5°. In Infektionsversuchen wurden Salat und Cichorie stark befallen. Zur Bekämpfung der Krankheit erwies sich eine Bodendesinfektion mit Uspulun, Essigsäure oder Formalin als geeignet.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Kasparowa, S. A. und **Akimotschkina, T. A.**, Einfluß der mineralischen Ernährung auf die Widerstandsfähigkeit der Zichorie. (Berichte d. Akad. d. Wiss. SSSR., biolog. Serie. Nr. 2. 1940. S. 147—162.) [Russisch.]

Elemente der mineralischen Ernährung beeinflussen stark die physiologischen und biochemischen Prozesse in der Zichorienpflanze, also auch ihre Widerstandsfähigkeit gegen verschiedene Mikroorganismen; jedoch hängt die Aktivität der Fermente, der osmotische Druck, die Atmung der Wurzeln usw. nicht nur von der mineralischen Ernährung, sondern auch von dem Alter der Wurzeln ab. Die Widerstandsfähigkeit der Zichorie gegen Sclerotinia Sclerotiorum mindert sich, entsprechend den biologischen Prozessen in den Wurzeln, mit dem Herannahen ihrer technischen Reife. Weiter wird auf die die Widerstandsfähigkeit der Zichorie erhaltende Rolle von Kali hingewiesen. Stickstoff wirkt im entgegengesetzten Sinne. Kali erhöht auch die Frostwiderstandsfähigkeit der Zichorie, indem es die hydrolytische Aktivität der Inulase verstärkt, während Stickstoff auch hier entgegengesetzt wirkt.

M. Gordienko (Berlin).

Goidanich, G., L'„Aspergillus alliaceus" Thom et Church isolato da capsule di cotone coltivato in Sicilia. (Boll. R. Staz. Patol. veg. Roma. An. 19. 1939. p. 488—496.)

Es wird eine an Baumwollkapseln, und zwar an Spindel und Faser pathogene Aspergillus-Art beschrieben, die in Infektionsversuchen auch an Ananas, Bananen u. a. Wirtspflanzen pathogen war. Über die Morphologie und das Verhalten des Pilzes in künstlicher Kultur werden eingehende Angaben gemacht.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Izrailski, W. P. und **Stepunina, A. W.**, Serologische Untersuchungen der durch Bakteriosen befallenen Pflanzen. 2. Mitteilung: Untersuchungen von Citruspflanzen auf „Citrus blast". (Mikrobiologie. Bd. 9. Folge 9/10. 1940. S. 863—870.) [Russisch.]

Es wird empfohlen, die Herstellung von Extrakten aus Citruspflanzen zur Präzipitinreaktion zum Nachweis von Citrus-Brand bei Temperaturen von 50—60° bzw. bei 100° durchzuführen. Extraktion bei 120° erfordert viel Zeit. Die Extrakte müssen durch gewöhnliche Papierfilter abfiltriert werden. Das Zerpulvern des Materials kann durch Zerschneiden in 1—2 mm große Stücke ersetzt werden, wodurch man hellere Extrakte erhält. Die Nachprüfung der Methode ergab günstige Resultate.

M. Gordienko (Berlin).

Izrailski, W. P. und **Artem'jewa, S. S.**, Serologische Untersuchungen der durch Bakteriosen befallenen Pflanzen. III. Untersuchungen der Tomaten auf Aplanobacter michiganense. (Mikrobiologie. Bd. 10. Folge 1. 1941. S. 74—80.) [Russisch.]

Bei der Bestimmung von Aplanobacter michiganense ergibt die serologische Methode (Präzipitin-Reaktion) die sichersten und die schnellsten Resultate. Die Agglutinationsreaktion mit Aplanobacter michiganense findet nur bei konzentrierten Sera statt und ist nicht immer spezifisch, so daß sie praktisch nicht anwendbar ist. Bei Untersuchungen von 314 Stämmen reiner Kultur verschiedener Bakterien, von denen 147 Aplanobacter michiganense waren, erzielte man in 96,2% der Fälle unbestritten richtige, in 3,2% der Fälle zweifelhafte und nur in 0,6% der Fälle falsche Resultate; bei Extrakten von gesunden und kranken Pflanzen ergab die Präzipitin-Reaktion 2,4% falsche und 10% zweifelhafte Resultate (gegen etwa 82% richtige Befunde bei der Färbemethode nach Gram). Es wird empfohlen, die Herstellung von bakteriellen Antigenen für Aplanobacter michiganense aus den kranken Tomatenpflanzen bei 60° im Laufe von 30 Min. durchzuführen. *M. Gordienko (Berlin).*

Tierische Schädlinge.

Menzel, R., Beitrag zur Kenntnis der an den Wurzeln von Weinreben vorkommenden Nematoden. (Anz. f. Schädlingskunde. Jahrg. 17. 1941. S. 117—120.)

Verf. gibt einen Überblick über die bisher im Weinbau beobachteten Nematoden, von denen Heterodera schachtii, H. marioni und Pratylenchus musicola namentlich genannt werden. In den mitteleuropäischen Rebbaugebieten haben die Nematoden bisher keine besondere Beachtung gefunden. Aus der Schweiz wird neuerdings Criconema rusticum genannt, dem vielleicht eine phytopathologische Bedeutung zukommt. Der an mehr oder weniger verholzten Wurzeln verschiedener Pflanzen beobachtete Nematode ist im Weinbaugebiet der Schweiz anscheinend weit verbreitet. Er findet sich an Unterlagen-, Edelreben- und Direktträgerwurzeln, wo am Wurzelwerk einer einzigen Rebe mehrere 100 Tiere vorhanden sein können. Außerdem wurden in geringerer Anzahl noch andere Nematoden, so Rotylenchus robustus, ferner verschiedene Halbparasiten und räuberisch lebende Nematoden angetroffen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Winning, E. v., Zur Biologie von Phthorimaea operculella Zell. als Kartoffelschädling. (Arb. phys. u. angew. Entomol. Bd. 8. 1941. S. 112—128.)

Die Kartoffelmotte ist schon verschiedentlich mit Kartoffeln nach Deutschland verschleppt worden, doch konnte eine Fortentwicklung der eingebrachten Stadien nie beobachtet werden. Das Verbreitungsgebiet des Schädlings erstreckt sich im Norden und Süden zwischen den 10°-Jahresisothermen. Als gefährdet kann unter diesen Umständen nur das Rheintal angesehen werden, soweit ein Auftreten im Freilande in Betracht kommt. Die Kartoffelmotte ist auf wilde und kultivierte Solanaceen spezialisiert. Die Raupen treten an Kartoffeln sowohl in den Blättern und Stengeln der grünen Pflanzen als auch in den Knollen auf, wo sie durch Minieren und Ausfressen Schaden hervorrufen. Mit den Knollen gelangt der Schädling in die Lager. Hier kann er sich stark vermehren. Auch an Tabak sowie an den Blättern und den grünen Früchten von Tomaten kann es zu Schädigungen kommen. Die von einem Weibchen abgelegte Eizahl beträgt im Durchschnitt 90. Zur Entwicklung einer Generation werden 36—43 Tage benötigt. Im günstigsten Falle kommt es im Jahre zur Entwicklung von 8—9 Generationen. Die Eier

sind weißlich-opalisierend. Sie verfärben sich über bräunlich bis braunviolett. Die jungen, etwa 2 mm langen Raupen bohren sich sehr bald in die Knolle ein und fressen durch die ganze Kartoffel Gänge. Durch die Ausscheidungen verkleben die sich berührenden Kartoffeln fest miteinander. Die Verpuppung erfolgt außerhalb der Knollen entweder in den Winkeln des Behälters oder auf den Kartoffelschalen. Sie dauert durchschnittlich etwa 9 Tage. Bei konstanter Temperatur von 14° C wurde die Weiterentwicklung der Kartoffelmotte gehemmt. Da diese Temperatur in den Kartoffellagern unseres Klimabereichs nicht erreicht wird, besteht somit auch keine Möglichkeit einer Vermehrung des Schädlings im Lager. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Franz, J., Der grüne Schildkäfer, Cassida viridis L., als Schädling der Pfefferminze in Bayern. (Anz. f. Schädlingskunde. Bd. 17. H. 4. 1941. S. 37—41.)

Die bisher bekannten bionomischen Tatsachen von C. viridis L. werden kurz zusammengefaßt. Mit zunehmender Temperatur vergrößert sich die Menge der aufgenommenen Nahrung. Die weite Verbreitung des Käfers in den Minzefeldern der Moore bei München wird auf das Vorkommen einer ursprünglichen Wirtspflanze (Mentha aquatica) zurückgeführt. Massenvermehrungen werden durch starke Parasitierung, sowie durch zwei- bis dreimalige Ernte unter gleichzeitiger Vernichtung des Schädlings vermieden. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Henrici, H., Inwieweit eignet sich das Ködern der Traubenwicklerfalter mit Tresterwein zur Festsetzung der Bekämpfungszeitpunkte und als Bekämpfungsmaßnahme? (Arb. üb. physiol. u. angew. Entomol., Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 41—68 u. 81—100.)

Die beiden Geschlechter von Clysia ambiguella und Polychrosis botrana sind in der Natur etwa im Verhältnis 1 : 1 vorhanden, während sich in den Fanggefäßen etwa 70—80% Weibchen mittleren Alters finden, die nur verhältnismäßig wenig legereife Eier bei sich führen. P. botrana wurde wesentlich stärker angelockt als Clysia ambiguella. Auf den Gipfel der Populationskurve folgt ein Fanggipfel im allgemeinen erst nach mehreren Tagen. Gegenüber der Spitze der Fangkurve liegt diejenige der Eikurve jeweils 2—4 Tage früher. Für die Bekämpfung mit Magengiften erwächst hieraus die Notwendigkeit, diese sofort nach Feststellung eines beachtlichen Fanggipfels vorzunehmen. Das Ködern der Falter in Fanggläser kommt als Bekämpfungsmaßnahme kaum in Frage, da nur etwa 10% der Population in die Gläser geraten und die Weibchen bereits zum großen Teil ihre Eier abgelegt haben. Zur Überwachung des Traubenwicklerfluges ist das Verfahren aber brauchbar. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Loewel, E. L., Rapsglanzkäfer vernichtet Kirschblüte. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 65.)

Durch den Rapsglanzkäfer wurde im letzten Frühjahr bei Sauerkirschen der Sorte Lange Lotkirsche der größte Teil der Blüten vernichtet. Staubbeutel, Narbe und Griffel fehlten; vielfach war auch der Fruchtknoten angefressen. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Abgeschlossen am 11. Dezember 1941.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 23|24.
Ausgegeben am 26. Februar 1942.

Zur anaeroben Bakterienkultur in Weck-Gläsern.

[Aus dem Institut für landwirtschaftliche Technologie der Technischen Hochschule Graz.]

Von **Franz Fuhrmann.**

Mit 8 Abbildungen im Text.

Im Laufe der Entwicklung bakteriologischer Untersuchungsmethoden wurde eine stattliche Reihe von Einrichtungen für die Zucht und Reingewinnung von sauerstoffempfindlichen Mikroben bekannt, die im wesentlichen nach zwei Gesichtspunkten eingerichtet sind: der Verdrängung der Luft und deren Ersatz durch ein für die Anaerobier indifferentes Gas bei normalem Luftdruck und der Wegschaffung des Staustoffes im luftverdünnten Raum durch Absorption allein oder in Verbindung mit einer Evakuation. Es erübrigt sich, hier auf die zahlreichen Bauarten solcher Einrichtungen im einzelnen einzugehen. Es sollen nur jene vornehmlich berücksichtigt werden, die einfach sind und auf Gerätschaften zurückgreifen, die für die Hauskonservenerzeugung erdacht wurden. Auch das weithalsige Pulverglas diente öfter diesen Zwecken.

Wohl eine der einfachsten Vorrichtungen zur Anaerobenkultur benutzte Leifson (1). Sie bestand aus einem größeren Pulverglas, dessen paraffinierter Stopfen mit einer Barometerprobe und einem Evakuationsrohr versehen war. Im Gebrauch wurden die beimpften Kulturröhrchen in das Glas gestellt. dessen Boden von einer dünnen Schicht von O_2-absorbierender Pyrogallollösung bedeckt war.

Ruschmann und Bavendamm (2) vereinfachten den von Maymone (3) konstruierten Zuchtapparat, indem sie ein entsprechend hohes und weites Pulverglas als Vakuumgefäß benutzten, das mit einem doppelt durchbohrten Kautschuckstopfen nach Einbringung eines Stückchens festen KOH, eines Manometers und der beimpften Röhrchen- oder Plattenkulturen in Petrischalen verschlossen wurde. Durch die Stopfenbohrungen führten mit gut eingeschliffenen Glashähnen versehene Rohre, von denen das eine bis nahe an den Boden reichte, während das zweite nur wenig über die innere Stopfenfläche vorstand. Der Pulverglashals hatte außen einen mit einem Ablauf versehenen Blechmantel, der mit Zement wasserdicht angekittet war. Zusätzlich wurde eine dreifach tubulierte Woulfsche Flasche gebraucht, die zum Teil mit wässeriger Pyrogallollösung gefüllt war, in die das H_2-Zuleitungsrohr ragte. Ein kurzes mit einem Hahn versehenes Rohr im mittleren Tubus diente als H_2-Ableitung und ein zweites im restlichen Tubus als Entnahmeleitung für die Pyrogallollösung. Beide Rohre hatten über ein Dreiwegstück einen gemeinsamen Anschluß für das Vakuumgefäß.

Die O_2-freie Atmosphäre wurde dadurch erhalten, daß zuerst eine Durchspülung mit Wasserstoff vorgenommen, der Wasserstoff dann durch Auspumpen entfernt und nun aus der Vorlage durch den Wasserstoffgasometerdruck die Pyrogallollösung zum festen KOH einfließen gelassen wurde. Nach Schluß der Hähne beider Rohre füllten sie den Blechmantel mit Wasser und nach Abnahme der Schläuche die Rohrstücke bis zu den Hähnen mit Vaselinöl. Diese durch Öl und Wasser gesicherte Anordnung blieb lange Zeit dicht, ist aber im Gebrauch doch kompliziert und wenig handlich, besonders, wenn ein oftmaliges Öffnen zwecks Probeentnahmen notwendig wird, abgesehen davon, daß für Petrischalenkulturen sehr große Pulvergläser genommen werden müssen.

Hilgers (3) verwendete als Vakuumgefäße Einsiedegläser im Verein mit der Frischhaltungseinrichtung „Siroklu Moment". Diese Zusammenstellung wurde dann von Bavendamm (4) unter Benutzung sog. Kiefer-Gläser verbessert, bei denen der Deckel mit einer Kante auf der Gummidichtung sitzt und durch den äußeren Luftdruck angepreßt wird. Auf die Notwendigkeit der kantigen Auflage hat schon Lode (5) hingewiesen. Zur Sicherstellung des luftdichten Abschlusses wurde das Einmachglas als Glocke über den Boden gestülpt und nach der Evakuation in dieser Lage in eine Schale mit Wasser gestellt, um an dem Eindringen desselben durch die Dichtung Störungen sofort erkennen zu können. Auch hier wurde zur Tilgung der letzten Spuren von O_2 alkalische Pyrogallollösung verwendet.

Abel (6) empfahl für die Anaerobenkultur im Vakuum die Verwendung des Frischhalters „Hermetisator", bei dem die beschickten Gläser in einen luftdichten, mit Wasser gefüllten Kessel kommen. Durch Abpumpen von Wasser wird die Luftverdünnung erzeugt.

Brekenfeld (7) bediente sich des „Saxonia-Frischhalters" der Schwarzenberger Metallwarenfabrik und will damit besonders gute Erfolge erzielt haben. Bei dieser Einrichtung wird das Weckglas mit zwei Gummiringen abgedichtet, zwischen die ein flaches Saugmundstück eingeschoben wird, durch das die Luft aus dem Gefäß abgesaugt wird. Nach Eintritt des Vakuums wird das Mundstück entfernt. Die Methode hat den Nachteil, daß später notwendig werdende Nachverdünnungen ohne Öffnung des Deckels nicht vorgenommen werden können.

Trautwein (8) berichtet ebenfalls über die gute Verwendbarkeit der Saxonia-Einrichtung, nur geht er in der Benutzung der Pyrogallollösung anders vor als Brekenfeld. Wenn man die Methoden der Anwendung der alkalischen Pyrogallollösung als O_2-Absorptionsmittel in der Anaerobenkulturtechnik durchgeht, bemerkt man das Streben, Vorkehrungen zu treffen, die Vereinigung Alkali-Pyrogallol erst nach Erreichung der Luftverdünnung zu ermöglichen und die Lösung mit großer Oberfläche wirken zu lassen. Daher wird bei den meisten Vakuumzuchtapparaten festes KOH oder Na_2CO_3 oder Lösungen dieser allein in das Gefäß eingelegt, bzw. eingegossen. Erst nach Verschluß desselben, noch besser nach erreichtem Vakuum wird die Pyrogallollösung zufließen gelassen. Daher bringen manche Forscher im Innern ihrer Vakuumkammern am Traggestell der Platten und Röhrchen Kippvorrichtungen für die Pyrogallollösungsgläschen an, die durch Schütteln betätigt werden. Um unmittelbar mit dem Verschließen zugleich die Vereinigung beider Lösungen zu bewerkstelligen, befestigten Pick und Pollaczek (9) an einem Fortsatz der inneren Hahnhülse eine Art von Pi-

pette, deren Ausflußöffnung ein Kegelventil verschloß, das sich beim Aufsetzen des Deckels durch Anstoßen am Gefäßboden öffnete. Trautwein bringt am Schalenständer ein röhrenförmiges Gefäß an, das mit einem Kautschuckstopfen gut verschlossen wird, durch dessen Bohrung der Schenkel eines U-Rohres bis zum Boden reicht, während der andere fast den Boden des Weckglases berührt. Dieses Röhrengefäß wird bis zur Hälfte mit der KOH-Lösung gefüllt, während das Pyrogallol in Substanz auf einer Glasplatte auf die mittlere Bodenerhöhung des Weckglases gestellt wird. Mit zunehmender Luftverdünnung tritt die Kalilauge langsam in das Vakuumgefäß über und erreicht allmählich das Pyrogallol. So hat die entstehende Lösung nur mehr den Sauerstoff der Restluft zu absorbieren.

Der Beschreibung meiner Einrichtung für die Anaerobenkultur unter Verwendung von Weckgläsern mit Spezialdeckel seien allgemeine Bemerkungen vorausgeschickt. Die Frage, in welcher Konzentration, bzw. in welchem Mischungsverhältnis eine alkalische Pyrogallollösung für die O_2-Absorption in kurzer Zeit am wirksamsten ist, wurde des öfteren Gegenstand eingehender Untersuchungen, die hier zu besprechen zu weit führen würde. Festgestellt kann werden, daß für die Geschwindigkeit des Absorptionsverlaufes innerhalb der Temperaturen von 10—40° C das Verhältnis Pyrogallol zu Alkali maßgebend ist, sofern nicht sehr verdünnte Lösungen verwendet werden, die an sich wenig wirksam sind. Ich benutze für meine Zuchtverfahren im luftverdünnten Raum mit einem Höchstvakuum von 60 mm Hg meist eine 20proz. Na_2CO_3- oder seltener eine 20proz. KOH-Lösung und eine 20proz. Pyrogallollösung, die stets frisch bereitet wird. Deshalb ist ein größerer Vorrat abgewogener Mengen von Pyrogallussäure vorhanden, die in Glastuben gut verschlossen aufbewahrt sind. Die Lösung darf höchstens hellgelb gefärbt sein. Das zweckmäßige Mischungsverhältnis dieser Lösungen bilden 2 Teile Pyrogallol auf 3 Teile Lauge, wobei stets die Pyrogallollösung der Lauge zuzusetzen ist. Dazu kommt als wesentlich, daß die Mischung erst nach der Evakuation erfolgt, was am handlichsten durch den Zufluß von einem außerhalb des Vakuumraumes befindlichen Behälter zu machen ist, wie es auch Kovács (14) bereits getan hat.

Es gibt auch andere Sauerstoffabsorptionsmittel, von denen das hydroschwefligsaure Natron ($Na_2S_2O_4$) in alkalischer Lösung von Kulka (16) bei der Züchtung von Anaerobiern erfolgreich angewendet wurde. 1 g Natriumhydrosulfit bindet, gelöst in 10proz. Lauge, praktisch etwa 60 ccm Sauerstoff. Da in der Restluft der Vakuumkammer nur mehr sehr wenig Sauerstoff vorhanden ist, kommt man mit kleinen Mengen aus, muß die Lösung aber immer frisch bereiten.

Da eine Barometerprobe im Kulturgefäß nur über den jeweilig herrschenden Druck unterrichtet und daher über etwa eingedrungene Spuren von Sauerstoff nichts aussagt, ist die Verwendung eines empfindlichen Sauerstoffindikators im Vakuumgefäß unerläßlich. Hierfür sind das alkalische Methylenblau und lebende Leuchtbakterien am geeignetsten.

Der Methylenblau-Indikator von van Riemsdijk (10) ist bei jeder Züchtungstemperatur wirksam. Er besteht aus 3 cc einer 10proz. wässerigen Glukoselösung, der 1 Tropfen einer Lösung von Methylenblau Höchst (50 mg in 30 ccm H_2O) und 1 Tropfen einer n-NaOH-Lösung zugesetzt werden. Mit diesem Reagens tränkt man Streifchen aus hydrophiler

Gaze, die in offenen Schälchen in den Vakuumraum eingelegt werden. Bei Sauerstoffreiheit sind sie entfärbt. Kleinste Mengen von O_2 bläuen sie.

Leuchtbakterienkulturen stellen in sauerstoffreier Atmosphäre das Leuchten ein. Spuren von O_2 bringen sie sofort wieder zum Leuchten. Deshalb sind sie als Sauerstoffindikator sehr brauchbar, zumal sie auch im Vakuum sich zu vermehren vermögen. Überdies sind sie leicht zu gewinnen und dauernd fortzuzüchten. Meine Einfangmethode (11), anlehnend an jene von Molisch (12), besteht darin, in einer sterilen Kochschen Kulturschale noch behäutete Muskelstücke von frischen Seefischen des Marktes in eine Lösung mit einem Gehalt von 2,5% NaCl, 0,5% Pepton und 1% Traubenzucker so einzulegen, daß sie mit der behäuteten Seite etwa 5 mm aus der Flüssigkeit herausragen. Mit dem Schalendeckel bedeckt werden die Fischansätze bei 12—15° gehalten und von 6 zu 6 Std. auf leuchtende Flecke untersucht, die gewöhnlich schon nach 12 Std. an der Grenze von Haut und Muskel auftreten. Da die Bakterien meist zwischen die Muskelfasern hineinwachsen, schneidet man mit der sterilen Präparierschere solche Stellen aus und zerreibt sie mit einem sterilen Glasstab in einem Röhrchen mit verflüssigter Salznährgelatine. Dieses Röhrchen dient gleich als Original für den Plattenguß zur Reingewinnung. Die Salznährgelatine ist eine Fischfleischbrühe mit einem Zusatz von 10% Gelatine, 0,5% Pepton. sicc. Witte, 0,5% Traubenzucker, 0,5% Glyzerin und 2,5% NaCl. Die gleiche Zusammensetzung hat der Salznähragar, bei dem an Stelle der Gelatine 2% Agar-Agar treten. Die Reaktion ist auf $p_H = 7$ zu stellen. Die Weiterzucht der Leuchtbakterien erfolgt auf den gleichen Nährböden bei 12—15° C. Die Überimpfung erfolgt in 4—6wöchentlichen Zwischenräumen. Da sie ihr Temperaturmaximum um 30° haben, sind sie als Sauerstoffreagens nur innerhalb von 0 und 25° C anwendbar.

Bei dem geringen Vakuum, das in den anaeroben Kultureinrichtungen gebraucht wird, bietet die Auswahl passender Schmiermittel für die Schliffe und Hähne keine Schwierigkeiten. Hier spielt ihre in der Hochvakuumtechnik so störende Abgabe flüchtiger Stoffe und ihr Dampfdruck keine Rolle. Man kann daher jedes Schmiermittel, das in seiner Zähigkeit der jeweils benutzten Zuchttemperatur angeglichen ist, verwenden. Ich benutze für die Kaltschranktemperaturen bis 15° gewöhnliche Vaseline, für Zuchten bei Zimmertemperaturen bis 22° das bekannte Ramsayfett in der zähen Ausgabe[1]), und für die Kulturversuche bei höheren Temperaturen das „fettfreie Schmiermittel" Nr. 6563 von Merck, das bei 70° etwa die Konsistenz von Vaseline besitzt.

Die Sauerstoffverdrängungsmethoden der anaeroben Kultur erfordern die Verwendung von reinem Wasserstoff oder Stickstoff, deren Bezug meist in Bomben erfolgt. Von den Verunreinigungen stört in diesem Falle nur der in Spuren oder geringen Mengen vorhandene O_2, der sich durch Überleiten über glühende blanke Kupferspäne leicht entfernen läßt. Bei der Bereitung des H_2 im Kipp verwende ich nur arsenfreies Zink in Form von Zinkdraht oder von Granulis in Verbindung mit 20proz. reiner H_2SO_4. Da die Zinkgranula immer reichlich Luft eingeschlossen haben, werden sie vor dem Einfüllen in den Gasentwickler mit dest. Wasser ausgekocht und mit Filtrierpapier oberflächlich

[1]) Geliefert von Leybolds Nachfolger, Köln-Bayental.

getrocknet verwendet. Der so erzeugte Wasserstoff wird nur durch je eine Waschflasche mit gesättigter $KMnO_4$- und 20proz. KOH-Losung gereinigt.

Jeder Nährboden läßt sich, sofern er der betreffenden Bakterienart genügt, zur Anlage anaerober Kulturen verwenden. Alle Gallerten, besonders wenn sie mit Bierwürze angesetzt sind, nehmen in erkaltetem Zustand reichlich Luft und damit O_2 auf, der im Vakuum nur langsam herausdiffundiert. Bei sehr sauerstoffempfindlichen Mikroben pflege ich das Nährsubstrat vor der Beimpfung mit H_2 oder N_2 zu beladen, wobei es unmittelbar vorher möglichst weitgehend entlüftet wird. Agarnährböden werden vor dem Plattenguß ausgekocht und die gegossenen Platten gleichzeitig entlüftet und vom Quellwasser befreit, wie es später angegeben ist. Frisch gefüllte Gelatineröhrchen bringt man nach der letzten Sterilisation vor der Erstarrung der Gelatine in passende Weckgläser, die sofort verschlossen werden, wie es im letzten Abschnitt dargetan ist. Wegen des leichteren Gasaustausches zwischen Röhrcheninnern und Vakuumgefäß benutze ich als Röhrchenverschluß

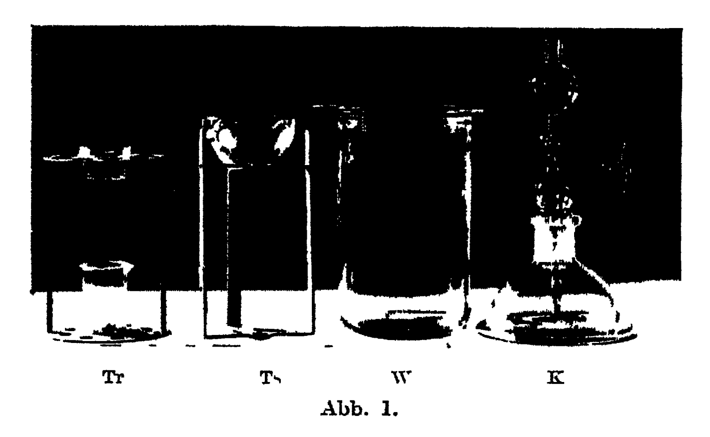


Abb. 1.

Zellstoff mit einer zweilagigen Überkleidung durch hydrophile Gaze. Dabei wird Baumwolle erspart und jedes Kleben und Fasern des Verschlußmittels verhindert.

Die Verwendung von Weckgläsern zur Anaerobenkultur bietet mit verhältnismäßig wenigen Grundbauteilen die Möglichkeit der Durchführung zahlreicher Zuchtverfahren, von denen ich nur die gebräuchlichsten näher beschreibe. Gerade der Laboratoriumsbetrieb mit seinen mannigfaltigen Arbeiten erfordert Anaerobenzuchteinrichtungen kleineren Formates in größerer Anzahl. Solche Einrichtungen müssen für Kulturschalen und Röhrchenkulturen gleich gut brauchbar sein und überdies sowohl bei erniedrigtem Luftdruck als auch in bestimmten Gasen und Gasgemischen zu züchten gestatten. Diesen Forderungen werden folgende Zusammenstellungen unter Benutzung der von den Jenaer Glaswerken Schott & Gen. aus feuerbeständigem Duranglas erzeugten Weckgläser in Verbindung mit der Deckhaube von Fürst (13) weitgehend gerecht. Kleine Zusatzeinrichtungen machen sie noch zu wertvollen Hilfsgeräten für viele andere biologische und biochemische Arbeiten, zumal die Verbindung aller Teile durch Normalschliffe erfolgt.

Abb. 1 zeigt die wesentlichen Einzelteile der Einrichtung, bestehend aus einem Weckglas W mit Gummiring, der Kappe K nach Fürst mit dem

Evakuationsaufsatz E mit beiden Hähnen a und b, den Kulturschalenträger Ts mit aufgesetzter Schale für die Absorptionslösung und den Kulturröhrenhalter Tr mit oben eingesetztem Absorptionsgefäß und unten eingestelltem Becherchen für den O_2-Indikator. Den Evakuationsaufsatz E bildet ein mit dem passenden Normal-Konusschliff versehener Zylinder mit seitlichem Hahn-Rohranschluß zur Wasserstrahlpumpe. Oben ist unter Zwischenschaltung eines Hahnes (a) das Pyrogallolgefäß mit durchlaufendem Auslaufrohr angeschlossen. Die Füllmarke ist für den Abfluß der Pyrogallollösung bis zum Rohransatz am Gefäß für eine Schalenfüllung von 15 ccm Lauge oder Sodalösung berechnet. Diese kleine Menge absorbierenden Gemisches genügt reichlich zur Entfernung des O_2 aus der Restluft.

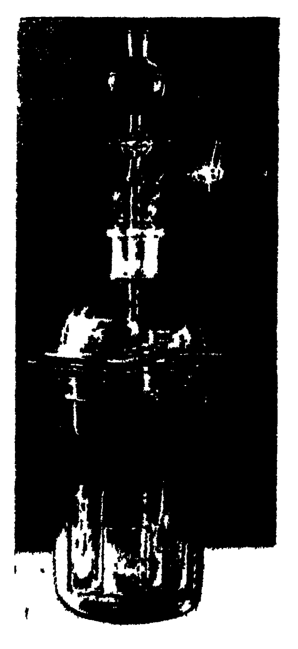




Abb. 2.

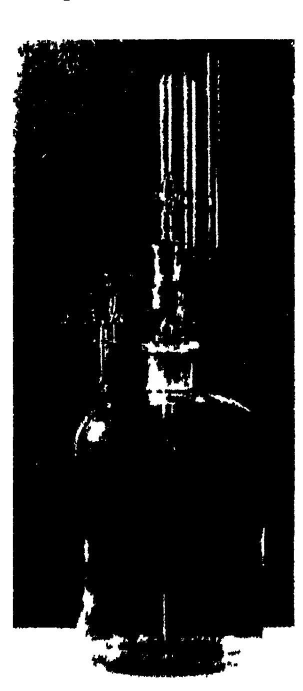


Abb. 3.

Abb. 2 gibt die mit einigen Kulturröhren beschickte, bereits geschlossene Einrichtung unmittelbar vor dem Einlassen der Pyrogallollösung nach der Evakuation wieder. Um den Grad derselben zur Vermeidung des Schäumens des Nährbodens durch zu sehr verminderten Druck zu kontrollieren, wird stets eine Vakuumvorlage mit Barometerprobe vorgeschaltet. Dadurch ist gleichzeitig die Gefahr eines Wasserübertrittes in die Apparatur bei plötzlich nachlassendem Wasserdruck beseitigt. Abb. 3 zeigt die von mir benutzte Vorlage verbesserter Bauart. Sie besteht aus einer 2 Liter Jenaer Enghalsflasche mit Normalschliff, in den der Pumpenschlußaufsatz eingesetzt ist, der oben in eine Normalschliffhülse übergeht, die zum Anstecken der mit einem Sperrhahn versehenen Barometerprobe dient. Das zur Pumpe führende Saugrohr reicht fast bis zum Flaschenboden, während das Verbindungsrohr zum Zuchtgefäß einen Dreiweghahn zum beliebigen

langsamen Beluften und Absperren der Vakuumkammer und der Vorlage trägt. Die Pyrogallollosung wird nun sehr langsam und vorsichtig in die Schale mit dem Alkali einfließen gelassen und darnach der Hahn geschlossen. Nach etwa 2 Std. ist der letzte Rest von Sauerstoff verschwunden, was man an der weißen Farbe des Indikatorgazestreifens wahrnimmt. Bei richtiger Dichtung aller Schliffe und Hähne ändert sich im Laufe der nächsten Tage der Unterdruck nur um wenige Millimeter. Dies ist jedoch belanglos, da es ja nicht auf die Erhaltung eines bestimmten Vakuums ankommt, sondern auf völlige O_2-Freiheit. Bei starker Abnahme des Vakuums muß man allerdings Dichtungsmängel beseitigen und neuerlich evakuieren, um die alkalische Pyrogallollösung mit O_2 nicht zu überlasten und dadurch



Abb. 4.

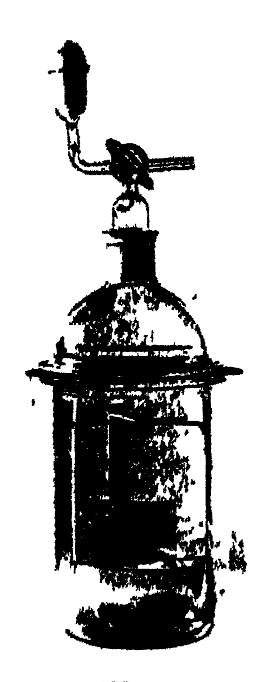


Abb. 5.

unwirksam zu machen. Die Öffnung der Apparatur wird durch sehr langsames Einlassen von Luft bis zum Druckausgleich eingeleitet. Jetzt wird das Abheben der Haube durch vorsichtiges Lösen und Lockern der Gummidichtung vorbereitet. Erwärmen der Glasränder von unten und oben erleichtert bei konsistenteren Schmiermitteln das Abnehmen. Zwischen Gummi und Schliffläche kann man auch eine dünne, aber nicht scharfe Stahlklinge einschieben und so den Verband lockern. Der käuflich erhältliche „Weckglasöffner" leistet dabei gute Dienste.

Für die anaerobe Plattenkultur verwende ich Petrischalen von 6 cm Durchmesser, die in das Weckglas mit Hilfe des in Abb. 1 gezeigten Halters Ts leicht eingesenkt und ihm wieder entnommen werden können. Abb. 4 veranschaulicht die Zusammenstellung für diesen Zweck. Dabei verwende ich bei geringer Plattenzahl niedrigere Weckgläser. Auf dem Deckel

der obersten Petrischale steht das Gefäß mit dem Indikator, während sich die Schale mit dem Alkali auf der oberen Verbindungsstrebe befindet. Die Handhabung deckt sich mit jener für die Röhrenkultur im Vakuum mitgeteilten.

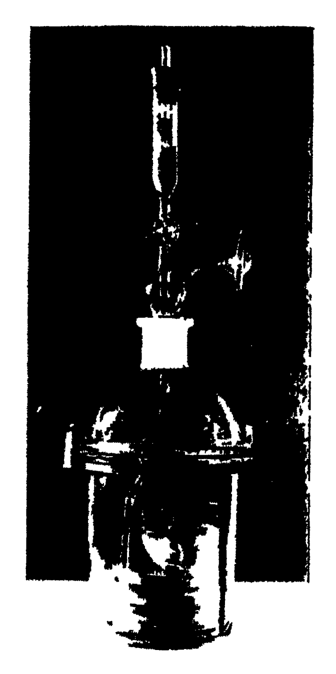
Bekanntlich stört das aus frisch erstarrtem Nähragar im Verlauf von mehreren Stunden austretende Quellwasser bei der Anlage von Plattenausstrichen und Strichkulturen. Bewegliche, auf der Gallertoberfläche abgelagerte Bakterien schwimmen durcheinander. Unbewegliche werden mechanisch durch Flüssigkeitsströmungen an der Oberfläche hin und her getrieben, wodurch das Entstehen von Mischkolonien sehr gefördert wird. Auch das Abimpfen von einer Kolonie wird dadurch erschwert. Man hat eine Reihe von Vorrichtungen zur keimfreien Oberflächentrocknung durch Verdunstung empfohlen und ersonnen. Sie sind meist kompliziert und teuer, manche von ihnen auch unzuverlässig. Ich nehme die Vortrocknung der frischen und unbeimpften Agarplatten im gleichen Gefäß unter Verwendung eines mit dem gleichen Normalschliff ausgestatteten Exsikkatoraufsatzes vor. Als Trockenmittel dient das bekannte Blaugel, das wenig verstäubt und sich sehr leicht durch Erhitzen auf 160 bis 200° regenerieren läßt. Diese Zusammenstellung zeigt Abb. 5. Zu unterst im Weckglas befindet sich die offene Schale mit dem Blaugel, auf dem Schalenrand steht der Plattenträger mit Petrischalen. Nach Verschluß des Glases mit der Haube mit dem Exsikkatoraufsatz wird durch das rechts abgehende Rohr langsam bis zur beginnenden Blasenbildung im Nährboden evakuiert und mit dem Dreiweghahn gesperrt. Nun kommt der Exsikkator bis zum Verschwinden des Quellwassers, was etwa nach 24 Std. geschieht, in den Brutschrank mit 32°. Die Öffnung erfolgt durch sehr langsames Einlassen von Luft durch den mit dem Wattefilter versehenen Ansatz, in dem die einströmende Luft eine Kapillare passiert, die die Strömungsgeschwindigkeit bremst und ausgleicht. Der langsame Druckausgleich ist für die Erhaltung der Sterilität der Agarplatten unerläßlich. Die vorgetrockneten Platten müssen möglichst bald verarbeitet werden, damit sie sich nicht zu stark mit Luft beladen. Bei der Plattenzucht besonders anspruchsvoller Anaerobier verwende ich zum Druckausgleich nicht Luft, sondern reinen Wasser- oder Stickstoff und beschleunige die Plattenbeimpfung und Einbringung derselben in den Vakuumzuchtapparat weitgehend.

Meine Einrichtung läßt sich mit geringfügigen Zusätzen auch für die Zucht in sauerstoffloser beliebig zusammengesetzter Atmosphäre für Röhrchen- und Plattenkulturen verwenden, wobei entweder im geschlossenen Raum bei geringem Überdruck oder mit dauernder Gasdurchströmung gearbeitet werden kann.

Die Apparatur für die Plattenkultur im geschlossenen Raum gibt Abb. 6 wieder. Das Pyrogallolgefäß am Aufsatz hat ein Wattefilter und eine bis zum Weckglasboden reichende Verlängerung des Einlaufrohres. Auf der obersten Kulturschale steht der Napf mit dem Sauerstoffindikator. Über das Wattefilter wird in langsamem Strome solange reiner H_2 oder N_2 durch das Gefäß geleitet, bis der Reagenzstreifen entfärbt ist. Inzwischen wird die Schliffdichtung von Gefäß und Haube durch einen Metallring mit zwei Preßschrauben gesichert, da stets ein kleiner Überdruck herrscht, weil der Gasstrom zuerst beim Gasausströmhahn gesperrt wird und dann erst der Eintritt. Da Wasserstoff ein sehr großes Diffusionsvermögen besitzt, ziehe ich reinen Stickstoff zur Füllung vor.

Die gleiche Zusammenstellung unter Verwendung eines hohen Weckglases dient für die anaerobe Kultur in Röhrchen.

Die Einrichtung läßt sich auch zur Untersuchung der bei der Zucht von Anaerobiern gebildeten gasförmigen Stoffwechsel- und Nährsubstratumsetzungsprodukte ausgestalten. Zu dem Zwecke wird der normalen Verschlußhaube noch ein kugeliger Verteilerkopf V mit mehreren kleineren Normalschliffen aufgesetzt, in die die notwendigen Nebengeräte eingesteckt werden. Der gesamte Aufbau geht aus der Abb. 7 hervor. Dieser Verteileraufsatz bildet übrigens einen Grundbestandteil einer neuen Zuchtapparatur für flüssige Massenkulturen von Mikroben, die demnächst veröffentlicht wird. Das gleiche gilt für das hier



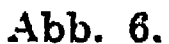


Abb. 6.

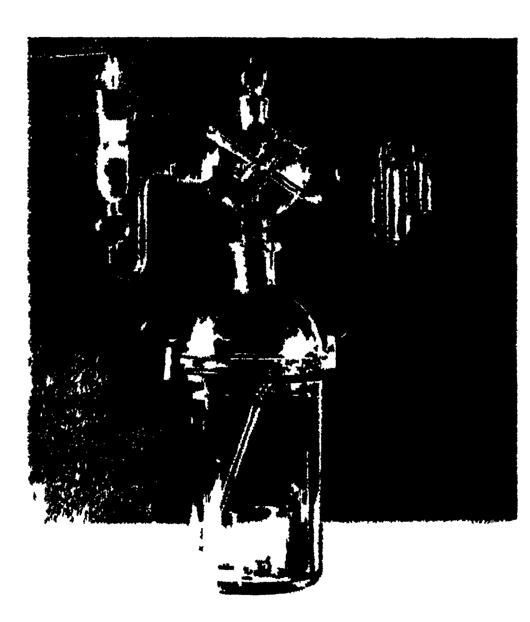


Abb. 7.

verwendete Gasableitungsrohr J, das sonst als Impfrohr dient. Es bekommt ein Wattefilter. Durch den gleichmäßig fließenden Gasstrom werden die flüchtigen Produkte dauernd abgeführt und gelangen über einen Umschalthahn zu einem der beiden Ausflußröhrchen a und a', an die entsprechende Absorptionsgeräte, wie sie in der mikrochemischen Analyse gebräuchlich sind, angeschlossen werden. Außerdem ist am Verteiler noch ein Blasenzähler B angebracht, um die Strömungsgeschwindigkeit beim vorbereitenden Ausspülen des Zuchtgefäßes beurteilen zu können. Während des Versuchs wird er durch Sperrung seines Ausflußrohres mit dem Schraubenquetschhahn ausgeschaltet. Bei solchen Untersuchungen erweist sich folgender Arbeitsgang als zweckmäßig: Nach Einbringung der Platten- oder Röhrchenkulturen und des Indikators wird das Weckglas mit der Haube geschlossen und die Dichtung durch die Ringverschraubung gesichert. Am aufgesetzten Verteiler werden das Gaseinleitungsrohr, der Blasenzähler und das

Gasableitungsrohr angesetzt und die Schliffverbindungen durch Gummispangen gesichert (in der Abb. weggelassen). Bei geschlossenem Gasableitungshahn und offenem Blasenzähler wird solange H_2 oder N_2 in langsamem Strome durchgeleitet, bis aller Sauerstoff verschwunden ist (Reagenzstreifen weiß!). Inzwischen werden die vorbereiteten Absorptionsgefäße an die Ausflußröhren a und a′ angeschlossen. Der Quetschhahn am Blasenzähler wird gesperrt und nunmehr der Gasstrom mit dem Umschalthahn den Absorptionsgefäßen zugeleitet. Die Umschaltung des Gasstromes von einem auf das andere Ausströmrohr ist zu einem kontinuierlichen Meßbetrieb unbedingt erforderlich, da nur dadurch die Untersuchungsphasen lückenlos aneinandergereiht werden können. Die Verwendung mikroanalytischer Absorptionsgeräte ermöglicht noch genügend genaue gewichtsanalytische Bestimmungen von flüchtigen Stoffwechselprodukten durchzuführen, ohne dazu Massenkulturen anlegen zu müssen.



Abb. 8.

Schließlich eignen sich die Weckgläser zur Aufbewahrung von gallertigen und flüssigen Nährsubstraten, überhaupt aller Nährböden in Röhrchen und Schalen sehr gut. Durch kombinierte Benutzung verschieden hoher, aber gleichweiter Gläser ist es möglich, auch sehr lange Kulturröhren luftabgeschlossen unterzubringen. Es ist jede Verdunstung ausgeschaltet, so daß kein Vertrocknen und keine Konzentrationsänderung eintreten kann. Man muß nur immer darauf achten, daß keine feuchten Watte- oder Gazeverschlüsse vorhanden sind, die von außen sitzenden Schimmelpilzen durchwachsen werden können, wodurch der Inhalt infiziert würde. Daher läßt man nach der letzten Dampfsterilisation die Nährböden 24 Std. frei an der Luft stehen. Dann sind die Verschlüsse getrocknet. Eine Ausnahme machen die mit Kapsenberg-Kappen aus Metall (17) verschlossenen Nährbodenproben, die unmittelbar nach der Sterilisation noch heiß ohne Gefahr für eine spätere Infektion in die Weckgarnituren eingeschlossen werden können. Abb. 8 verdeutlicht die Verwendung der Weckgefäße zur Nährbodenaufbewahrung.

Zusammenfassung.

Verfasser beschreibt die Einrichtung und Anwendung von Weckgläsern aus Duranglas in Verbindung mit dem Kappenverschluß von Fürst zur anaeroben Kultur von Mikroorganismen in der Proberöhre und auf der Platte in sauerstoffreier verdünnter Luft, in gewählter Gasatmosphäre bei geringem Überdruck oder bei Gasdurchleitung mit der Möglichkeit, flüchtige Stoffwechselprodukte mengenmäßig und chemisch definiert zu erfassen. Auch die Verwendung von Weckgläsern zur Nährbodenaufbewahrung wird dargestellt.

Schrifttum.

1. Leifson, E., Bacterial Spores. (Journ. Bact. Vol. 21. Baltimore 1931. p. 331.) — 2. Ruschmann, G. und Bavendamm, W., Zur Kenntnis der Rösteerreger Bacillus felsineus und Plectridium pectinovorum (Bac. amylobacter A. M. et Bredemann). (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 64. 1925. S. 340.) — 3. Hilgers, E., Die Verwendung der Haushaltungsvakuumapparate in der Technik der Anaerobenzüchtung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 91. 1924. S. 537.) — 4. Bavendamm, W., Neue Untersuchungen uber die Lebensbedingungen holzzerstörender Pilze. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 75. 1924. S. 426.) — 5. Lode, A., Zur Züchtung der Anaeroben. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 95 1925. S. 91.) — 6. Abel, Bemerkungen zu dem Aufsatz von Privatdozent Dr. Hilgers über die Verwendung der Haushaltungsvakuumapparate in der Technik der Anaerobenzüchtung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 91. 1924. S. 558.) — 7. Brekenfeld, Zur Technik der Anaerobenzüchtung. III. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 92. 1924. S. 129.) — 8. Trautwein, K., Ein Beitrag zur Methodik der Anaerobenzüchtung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 77. 1929. S. 551.) — 9. Pick, F. und Pollaczek, K. F., Zur Methodik der Anaerobenzüchtung. (Zentralbl. f. Bakt.. Abt. I, Orig. Bd. 104. 1927. S. 273.) — 10. Riemsdijk, M. van, Eine einfache Methode zur Beseitigung des Sauerstoffes an der Plattenoberfläche zur anaeroben Zucht. Die „Ringmethode". (Zentralbl. f. Bakt., Ab. I, Orig. Bd. 143. 1938/39. S. 265.) — 11. Fuhrmann, F., Studien zur Biochemie der Leuchtbakterien. 1. Mitt. (Mh. f. Chemie. Bd. 60. Wien 1932. S. 69.) — 12. Molisch, H., Leuchtende Pflanzen, 2. Aufl. Jena (G. Fischer) 1912. — 13. Fürst, H., Verwendung von Einkochgläsern aus feuerfestem Glas im Laboratorium. (Die chem. Fabrik. Jahrg. 14. 1941. S. 297.) — 14. Kovács, N., Untersuchungen über die Technik der Anaerobenzüchtung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 95. 1925. S. 344.) — 15. Kolath, W. und Quast, G., Eine vereinfachte Methode für Anaerobenzüchtung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 95. 1925. S. 181.) — 16. Kulka, W., Ein Beitrag zur Anaerobenzüchtung bei Sauerstoffabsorption. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 59. S. 554.) — 17. Kapsenberg, G., Eine „Kulturkappe" an Stelle des Wattepfropfens. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 146. 1940. S. 81.)

Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens.

X. Mitteilung.

Die Virulenzsteigerung von Pseudomonas tumefaciens durch Titan.

[Aus der mikrobiologisch-chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **C. Stapp.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

A. Itano und A. Matsuura haben 1935 (9 a) berichtet, daß Knöllchen der Leguminosen das Wachstum der entsprechenden Knöllchenbakterien günstig beeinflussen. K. Konishi und T. Tsuge fanden ein Jahr später (10), daß die Knöllchen der Leguminosen außer anderen Mineralstoffen auch Titan enthalten und daß der Gehalt an Titan in den Knöllchen von Luzerne und ebenso einer Reihe anderer Leguminosen höher war als in den Wurzeln.

Weiter wurde festgestellt, daß die Zugabe von Titansulfat bzw. von titansaurem Kalium in bestimmten Konzentrationen zu Crones stickstoff-

freiem Agarmedium nicht nur die Zahl der Knöllchen bei Luzerne steigerte, sondern die Bildung der Knöllchen auch früher erfolgte als bei den Kontrollen.

Wurden Luzernepflanzen in Sand gezogen, dem jeweils eines der beiden Titansalze zugesetzt war, so wurde auch eine höhere Ernte erzielt.

Es lag daher nahe, dem Titan eine enge Beziehung zur physiologischen Aktivität der Knöllchenbakterien zuzuerkennen, zumal M. Hotchkiss (7a) und G. G. Rao (13) bereits früher über eine Stimulierung des Wachstums von Bakterien in Nährlösung bzw. eine Förderung der Nitrifikation von Ammonsalzen in Böden durch Titan berichtet hatten. Im Jahre 1937 konnten dann Itano und Matsuura (9b) den Nachweis erbringen, daß relativ große Mengen von Titan in der Asche von Knöllchen, aber auch in den Wurzeln der Leguminosen enthalten sind, Titan ferner in anderen Teilen von Leguminosen, wie Blättern und Stengeln, vorkommt, sich aber nicht im Samen von Leguminosen nachweisen ließ. Wurde einem Kulturmedium Asche von Knöllchen in einer Menge, die etwa 1% der Knöllchen entsprach, zugesetzt, so ließ sich keine begünstigende Wirkung auf die Knöllchenbakterien erkennen. Der fördernde Einfluß von Titanverbindungen, wie Titansäure, Titansulfat oder titansaures Kalium in geringen Mengen war nur unbedeutend. Höhere Konzentrationen wirkten hier wie bei früheren Untersuchungen toxisch. Bei gleichzeitigem Zusatz von Hefeextrakt neben der Titanverbindung waren jedoch günstige Beeinflussungen erkennbar. So z. B. bei Knöllchenbakterien von Klee, wenn Titansulfat in Mengen von 0,001—0,005% verabreicht wurde: für Bohnenbakterien lag die günstigste Konzentration bei 0,001%. In morphologischer Hinsicht wirkten die geprüften Titanverbindungen auf die Knöllchenbakterien nicht spezifisch.

Über das allgemeine Vorkommen von Titan in Böden liegen eine Reihe früherer Untersuchungen vor, so u. a. von Ch. B. Wait (17), Pellet und Fribourg (12), W. O. Robinson, L. A. Steinkoenig und C. F. Miller (14), W. Geilmann (5), H. O. Askew (1), sowie über den Titangehalt von Kulturpflanzen von W. Geilmann (5), F. Terlikowski und T. Gornicki (16) und ebenso über die Wirkung des Titans auf das Pflanzenwachstum von A. Němec und V. Kaš (11), E. Blanck und F. Alten (3), O. L. Inman, G. Barclay und H. Malvern (8), S. Gericke (6), 7 u. a., wobei allerdings erwähnt werden muß, daß die Ergebnisse auf letzterem Gebiet auch noch teilweise widersprechend sind.

Da die Knöllchenbakterien der Leguminosen mit größter Wahrscheinlichkeit in naher Verwandtschaft stehen zur Gruppe Pseudomonas tumefaciens, wurde von mir geprüft, ob das Titan eine erkennbare Wirkung auf die bakteriellen Erreger des Pflanzenkrebses ausübt und gegebenenfalls damit eine Erhöhung der Virulenz zu erzielen sei.

Eigene Untersuchungen.

Um einen Einfluß des Titans mit einer gewissen Sicherheit aus den zu erwartenden Ergebnissen ableiten zu können, wurden die Bakterien nicht nur einmal in Substrate mit Titansalz-Zusatz eingeimpft, sondern in Abständen von jeweils einer Woche 5mal hintereinander; vergleichend wurde eine Reihe anderer Mineralsalze in ihrer Wirkung auf Pseud. tumefaciens mitgeprüft.

Als Nährlösungen wurden absichtlich nur synthetische angewandt, und zwar hatten diese folgende Zusammensetzung:

Nährlösung I		Nährlösung II	
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	0,1%	$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	0,1%
$CaCl_2$	0,05%	$CaCl_2$	0,05%
Na_2HPO_4	0,1%	K_2HPO_4	0,1%
KNO_3	0,5%	Asparagin	0,5%
Saccharose	2,0%	Glukose	2,0%

Je einer Serie wurden die Spurenelemente einzeln in Konzentrationen von 0,1 mg% zugesetzt, einer anderen die jeweils 10fache Menge; nur vom Mangansalz waren höhere Dosen (1,0 bzw. 10 mg%) gegeben worden.

Insgesamt wurden 11 Salze geprüft, davon 7 als Sulfate, und zwar das Aluminium, Eisen, Kupfer, Mangan, Strontium, Titan und Zink, während Chrom, Molybdän, Vanadium und Wolfram als Natriumsalze Verwendung fanden.

Von Pseud. tumefaciens wurde der Stamm Dahlia Ra (= Ra) für die Versuche ausgewählt, weil er erstens eine bisher ziemlich gleichbleibende gute Pathogenität und zweitens in Eisen-Mangan-Möhrensaft stets die beste Sternbildung gezeigt hat. Die Nährlösungen mit den einzelnen Spurenelementen waren zu je 6 ccm in Reagenzröhrchen sterilisiert worden.

Eine Woche nach der ersten Beimpfung zeigten sich makroskopisch keine deutlichen Entwicklungsunterschiede innerhalb derselben Reihen. In den Röhrchen mit Nährlösung I war Trübung und eine nur schwache, mit Nährlösung II ebenfalls Trübung, jedoch eine deutlich bessere Oberflächenentwicklung festzustellen. In morphologischer Hinsicht waren mikroskopisch keine auffallenden Unterschiede erkennbar, nur in den Röhrchen mit den stärkeren $ZnSO_4$-Gaben waren schwache Teratologien vorhanden.

Auch am Ende der zweiten Umimpfung blieb die Entwicklung in den Röhrchen mit Nährlösung II kräftiger als in denen mit Nährlösung I. In den Röhrchen der ersteren besaß die Kahmhaut ein schwach grünlich-gelbes Aussehen. Soweit Unterschiede in der Entwicklung innerhalb der gleichen Reihen auftraten, waren diese stets geringfügig.

Die jeweils 5. Überimpfung wurde nach 7tägiger Bebrütung bei 30° zu Infektionen an jungen Pflanzen von Datura tatula verwandt.

Es stellte sich bald heraus, daß die in Nährlösung I gezogenen Bakterien z. T. in ihrer Pathogenität wesentlich hinter denen der in Nährlösung II gezogenen zurückblieben. Vor allem hatte die Nährlösung I als solche, also ohne Spurenelemente, eine derartige Schwächung der Bakterien hervorgerufen, daß es kaum noch zu einer Tumorbildung kam. Deshalb mußte diese Versuchsserie ausgeschaltet werden.

Die Ergebnisse der Infektionen mit Stamm Ra in Nährlösung II, die am 3. Sept. 1940 vorgenommen wurden, sind in den Tab. 1 und 2 wiedergegeben.

Tab. 1 läßt demnach erkennen, daß die in Nährlösung II mit Zusatz von nur 0,0001% Titansulfat vorgezüchteten Bakterien die stärkste Pathogenität besaßen, daß Kupfersulfat eine geringe Beschleunigung des Tumorwachstums bewirkt hatte, während Strontium- und Zinksulfat ohne erkennbaren Einfluß geblieben waren.

Alle anderen Spurenelemente haben die Pathogenität herabgesetzt, merkwürdigerweise am stärksten in dieser geringen Konzentration das Molybdat und Ferrosulfat.

Tabelle 1.

Nährlösung II	Tumorentwicklung an Datura tatula nach 17 Tagen	27 Tagen	37 Tagen	47 Tagen	65 Tagen	79 Tagen
Aluminiumsulfat 0,0001%	(+)[1]	+	++	++ +++	++ +++	0
Ferrosulfat 0,0001%	+	++	++	0	--	—
Kupfersulfat 0,0001%	++	++	++ +++	++++	++++	0
Mangansulfat 0,001%	++	++	+ ++	++ +++	+++	+++
Strontiumsulfat 0,0001%	++	++	++	+++	+++ ++++	++++
Titansulfat 0,0001%	+++	+++	++++	+++++	+++++	+++++
Zinksulfat 0,0001%	++	++	++	++ +++	+++	++++
Natriumchromat 0,0001%	(+)	+	+ ++	++	++ +++	+++
Natriummolybdat 0,0001%	(+)	+/++	+ ++	0	—	—
Natriumvanadat 0,0001%	+	+/++	++	++	++/+++	0
Natriumwolframat 0,0001%	+−	++	++	++ +++	+++	0
Kontrolle	+ ++	++	++	++ +++	+++	++++

[1]) Die Kreuze (+) bis +++++ kennzeichnen die jeweilige Stärke der Tumorentwicklung, wobei (+) = ganz schwache Entwicklung und +++++ = sehr kräftige Entwicklung des Tumors bedeutet. 0 besagt, daß die Pflanzen zu dieser Zeit abgestorben sind.

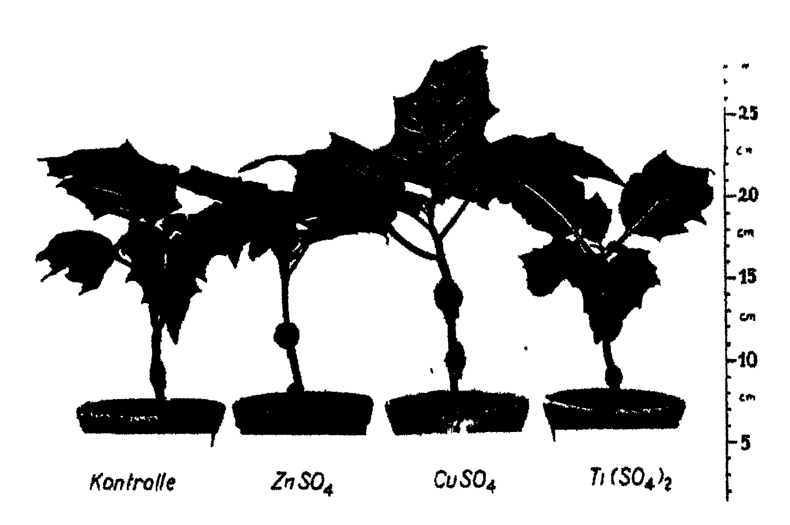


Abb. 1. Virulenzbeeinflussung von Pseud. tumefaciens durch Spurenelemente in Konzentrationen von 0,0001%. Pflanzen infiziert am 3. Sept. 1940; aufgenommen am 18. Sept. 1940.

Auch in der Serie mit den 10fach höheren Konzentrationen an Spurenelementen (Tab. 2) zeigt Titansulfat noch den die Pathogenität am stärksten begünstigenden Einfluß. Die mit Strontiumsulfat vorbehandelter Kultur geimpfte Pflanze hat erst nach 10 Wochen eine Tumorgröße erreicht, die über

Tabelle 2.

Nährlösung II	Tumorentwicklung an D a t u r a t a t u l a nach 17 Tagen	27 Tagen	37 Tagen	47 Tagen	65 Tagen	79 Tagen
Aluminiumsulfat 0,001 %	—	+	+/++	++	0	—
Ferrosulfat 0,001 %	—	(+)	+	+ ++	0	— —
Kupfersulfat 0,001 % . . .	+	+/++	+ ++	++ ++	+++	0
Mangansulfat 0,01 % . . .	++	++	++	++	++	0
Strontiumsulfat 0,001 % . . .	+	+ ++	++ +++	++ +++	++ +++	++++ +++++
Titansulfat 0,001 %	+++	+++	+ +++	++++ +++++	++++ +++++	0
Zinksulfat 0,001 %	+	+	+	+ ++	++	0
Natriumchromat 0,001 % . . .	?	(+)	+	0	—	—
Natriummolybdat 0,001 % . . .	(+)	(+)	+	+ ++	++ +++	0
Natriumvanadat 0,001 %	(+)	+	+	+ ++	++	0
Natriumwolframat 0,001 % . . .	+	+	+ ++	+ ++	++	0
Kontrolle	+/++	++	++	++ +++	+++	++++

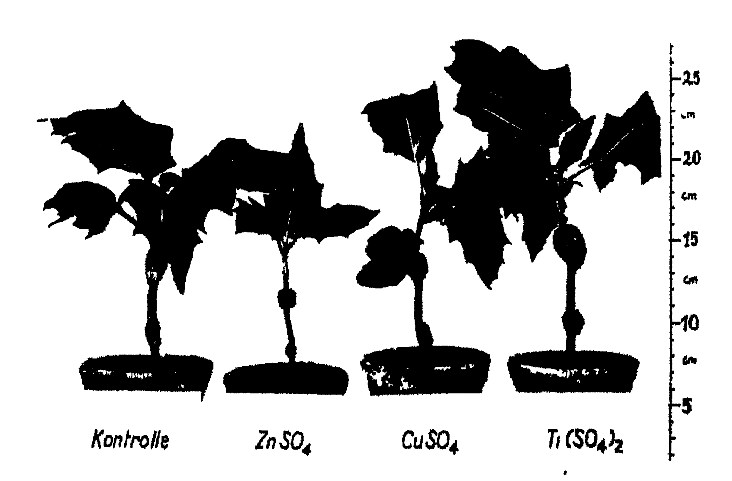


Abb. 2. Wie Abb. 1, nur Spurenelemente in 10fach höherer Konzentration (= 0,001 %).

derjenigen der Kontrollpflanzen lag. Durch Natriumchromat waren hier die Bakterien am nachhaltigsten geschädigt.

Das Ferrosulfat hat sich wiederum als sehr ungünstig erwiesen. Daß die mit den entsprechend vorbehandelten Kulturen geimpften Pflanzen in beiden Fällen frühzeitiger eingegangen sind, könnte zu der Vermutung führen, diese Kulturen seien gerade besonders virulent gewesen. Das trifft jedoch nicht zu. Denn eine Toxinbildung, die zuweilen bei frisch isolierten Stämmen von P s e u d. t u m e f a c i e n s aus Spontantumoren festzustellen war und

auf deren Wirkung allein dann das vorzeitige Absterben der Pflanzen zurückzuführen wäre, konnte hierbei nicht nachgewiesen werden.

Die Abb. 1 und 2, für die nur ein paar Töpfe der beiden Serien ausgewählt wurden, mögen die Infektionsergebnisse veranschaulichen.

Darauf hingewiesen sei noch, daß C. Sempio (15) 1934 eine Reihe von Kationen in ihrem Einfluß auf die Resistenz junger Rizinuskeimlinge gegenüber Pseud. tumefaciens geprüft hatte, darunter auch Aluminium, Zink, Strontium, Eisen und Kupfer, und zwar als Nitrate, nicht aber Titan. Während er in den von ihm angewandten Konzentrationen bei den ersteren Kationen keine auffallende Schädigung der Keimpflanzen beobachten konnte, zeigten sich solche aber bei Nickel, Kadmium, Kupfer, Quecksilber und Kobalt.

Im Winter 1940/41 wurden erneute Versuche von mir in der gleichen Richtung, wie oben dargelegt, eingeleitet, wobei jedoch die Vorzüchtung in den entsprechenden Nährlösungen über einen größeren Zeitraum ausgedehnt wurde. Die Umimpfung in frisches Substrat geschah 14tägig. Ferner wurden im zeitigen Frühjahr 1941 herangezogene Pflanzen jeweils in Abständen von 8—14 Tagen mit Titansulfatlösungen gedüngt, um festzustellen, ob hiermit die gleiche Wirkung zu erzielen sei, als wenn die Bakterien in Nährlösung mit Titansalz vorgezüchtet worden wären.

Infolge ungünstiger Witterungsverhältnisse und auch durch andere Umstände bedingte unzureichende Belichtung im Gewächshaus, waren die Pflanzen geschwächt und die Tumorentwicklung blieb selbst in den Kontrollen so gering, daß die ganzen Versuchsreihen nicht auswertbar waren.

Da aus verschiedenen Gründen eine Wiederholung der Versuche in absehbarer Zeit nicht möglich ist, die Befunde aber doch von Interesse sein dürften, seien sie bereits jetzt bekanntgegeben. Es muß aber betont werden, daß dieselben nur als vorläufige Ergebnisse gewertet werden dürfen.

Bekanntlich zeigen die verschiedenen Stämme von Pseud. tumefaciens serologisch untereinander Abweichungen, sie haben also kein einheitliches Zelleiweiß. Deshalb wird auch zu prüfen sein, ob sie alle gleichsinnig auf das Titan ansprechen.

Jedenfalls bleibt die Weiterführung dieser Untersuchungen vorbehalten.

Zusammenfassung.

Versuche, durch Vorzüchten von Pseud. tumefaciens in Nährlösung genau bekannter Zusammensetzung mit Zusätzen verschiedener Spurenelemente, eine Virulenzerhöhung des bakteriellen Parasiten zu erzielen, hatten das vorläufige Ergebnis, daß mit Titansulfat in Konzentrationen von 0,0001—0,001% eine deutliche Steigerung der Pathogenität zu erreichen war. Infektionen an Datura tatula mit derartig vorbehandelten Bakterien des Stammes Dahlia Ra erbrachten die größten Tumoren.

Schrifttum.

1. Askew, H. O., Titanium in some New Zealand soils and pastures. (New Zealand Journ. Sci. and Technology. Vol. 12. 1930. p. 173—179.) — 2. Bertrand, G., et Spirt, V., Recherches sur la présence et la repartition du titane dans les plantes phanérogames. (Ann. Sci. agron. T. 46. 1929. p. 551—559.) — 3. Blanck, E. und Alten, F., Ein Beitrag zur Frage nach der Einwirkung des Titans auf die Pflanzenproduktion. (Journ. f. Landw. Bd. 72. 1924. S. 103—110.) — 4. Brenchley, W. E., The action on the growth of crops of small percentages of certain metallic compounds when applied with ordinary artificial fertilisers. (Journ. Agric. Sci. Vol. 22. 1932. p. 704—735.) — 5. Geilmann, W., Über die Verbreitung des Titans in Böden und Pflanzen. (Journ. f. Landw. Bd. 68. 1920. S. 107—124.) — 6. Gericke, S., Die

Wirkung verschiedener Mikronährstoffe auf das Pflanzenwachstum. (Die Umschau. Bd. 38. 1940. S. 597—599.) — 7. Gericke, S., Beitrag zur Wirkung des Titans auf das Wurzelwachstum der Gerste. (Prakt. Blatter f. Pflanzenbau u. -schutz. Bd. 18. 1940/41. S. 39—46.) — 7a. Hotchkiss, M., Studies on salt action. VI. The stimulating and inhibitive effect of certain cations upon bacterial growth. (Journ. Bact. Vol. 8. 1933. p. 141—162.) — 8. Inman, O. L., Barclay, G., and Malvern, H., Effect of titanous chloride on the formation of chlorophyll in Zea mays. (Plant Physiology. Vol. 10. 1935. p. 821—822.) — 9a. Itano, A., Matsuura, A., and Nogaku Kenkyu. Vol. 25. 1935. p. 423. — 9b. Dieselben, Studies on the nodule bacteria. VIII. Influence of ash content of the nodules on the growth of nodule bacteria with a special reference of the titanium salts. (Ber. d. Ohara Instituts f. landw. Forsch. Bd. 7. 1937. S. 501—515.) — 10. Konishi, K., and Tsuge, T., On the mineral matters of certain leguminous crops. I. Inorganic constituents of underground plant parts of certain leguminous crops. II. Nodule formation and Titanium suppley. (Mem. Coll. Agric., Kyoto Imp. Univ. Vol. 37. 1936. p. 1—25.) — 11. Němec, A., und Kaš, V., Studien über die physiologische Bedeutung des Titans im Pflanzenorganismus. (Biochem. Ztschr. Bd. 140. 1923. S. 583—590.) — 12. Pellet und Fribourg, Bull. Assoc. Chim. Sucr. Vol. 23. 1905. p. 67 (zitiert bei Němec und Kaš, Biochem. Ztschr. Bd. 140. 1923. S. 583—590.) — 13. Rao, G. G., Newer aspects of nitrification. I. (Soil Science. Vol. 38. 1934. p. 143—159.) — 14. Robinson, W. O., Steinkoenig, L. A., and Miller, C. F., The relation of some of the rarer elements in plants and soils. (U. S. Dept. of Agric. Bull. 600. Washington D. C. 1917.) — 15. Sempio, C., Influenza di alcuni cationi sulla recettività del Ricino al 'B. tumefaciens' e sullo sviluppo di quest' ultimo in coltura (agar di brodo). (Riv. Pat. veg. Ann. 24. 1934. p. 493—556; ref. Rev. appl. Mycology. Ann. 14. 1935. p. 647.) — 16. Terlikowski, F. und Gornicki, T., Titangehalt in einigen Kulturpflanzen. (Roczn. Nauk. rob. i. lesn. Bd. 29. 1933. S. 289; ref. Ztschr. Pflanzenernähr. Düngg. u. Bodenkunde. (A) Bd. 31. 1933. S. 362.) — 17. Wait, Ch. B., The occurence of titanium. (Journ. americ. chem. Soc. Vol. 18. 1896. p. 402—404.)

Über die unterschiedliche Vermehrungsgeschwindigkeit von Stämmen des Kartoffel-X-Virus.

[Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft.]

Von E. Köhler.

Mit 1 Abbildung im Text.

I. Einleitung.

Vielfache Beobachtungen am Kartoffel-X-Virus und am Tabakmosaik-Virus deuten darauf hin, daß sich die einzelnen Stämme (Varianten) dieser Virusarten mit recht unterschiedlicher Geschwindigkeit von der Infektionsstelle aus in der Wirtspflanze ausbreiten. Beim Tabakmosaik-Virus ist diese Tatsache bei den meisten sog. Gelbstämmen besonders augenfällig, diese wurden deshalb von den amerikanischen Autoren, die sie zuerst isolierten (McKinney, 1926; Jensen, 1933, 1937), auch als „slow moving strains" bezeichnet. Beim Kartoffel-X-Virus hat der Verf. (1938) in quantitativen Versuchen diesbezügliche Unterschiede nachgewiesen und gefunden, daß die beiden Stämme Mb 12 und Ers 25 die Tabakpflanze bedeutend langsamer durchsetzen als die Stämme H 19 und CsA.

Bei Mischinfektionen verschiedener Virus a r t e n kann zur Isolierung der einen Mischkomponente das Konkurrenzverfahren in Anwendung kom-

men, das ebenfalls darauf beruht, daß die beiden Gemischpartner mit unterschiedlicher Geschwindigkeit in den Sproßspitzen anlangen (K. M. Smith, 1933). Aus letzteren kann die schnellere Komponente in reiner Form abgeimpft werden.

Die Erscheinung der unterschiedlichen Durchdringungsgeschwindigkeit scheint nun mit der Auffassung in Widerspruch zu stehen, daß das Virus, das bekanntlich im Phloëm mit beträchtlicher Geschwindigkeit geleitet wird, im Phloëm in gleicher Weise wie die Assimilate einer Massenströmung unterworfen wird und daß es rein passiv mit dieser Massenströmung weiterbefördert wird (Bennet, 1937, 1940). Wenn die Theorie der Massenströmung richtig ist, so ist zu erwarten, daß die Transportgeschwindigkeit im Phloëm für die verschiedenen Virusarten im großen und ganzen dieselbe ist. Die Unterschiede in der Durchdringungsgeschwindigkeit müssen dann in anderen Faktoren gesucht werden. Es kommen zunächst zwei Faktoren in Frage. Einmal ist denkbar, daß sich die einzelnen Virusstämme mit unterschiedlicher Geschwindigkeit in den Infektionsherden (der Blätter) vermehren und daß die Viruspartikel infolgedessen mit unterschiedlicher Geschwindigkeit an das Phloem abgegeben werden; eine notwendige Folge wäre bei den langsamer vermehrten Viren eine verzögerte Durchdringung der Pflanze. Zweitens muß unter Umständen damit gerechnet werden, daß das Phloem Stoffe enthält oder bildet, die auf das Virus inaktivierend wirken. Solche Stoffe sind in der Pflanze nachgewiesen (Kausche, 1940; Melchers und Schramm, 1940). Erweist sich ein Virus gegen sie als verhältnismäßig empfindlich, so wird es die Pflanze langsamer durchsetzen als ein anderes widerstandsfähigeres.

Wir schildern im folgenden einige Versuche, durch die die Frage der unterschiedlichen Vermehrungsgeschwindigkeit von Stämmen des X-Virus in der Tabakpflanze (Samsun, B. B. gestielt) geprüft wurde. Als Versuchsstämme dienten drei „hochnekrotische" Stämme, nämlich die vom Verf. früher isolierten Stämme Cs 37, Us und Bf, von denen bei gleichzeitig vorgenommener Impfung der Stamm Us am frühesten, der Stamm Bf am spätesten Folgesymptome in Erscheinung treten läßt. Diese Stämme sind für die erforderlichen quantitativen Feststellungen deshalb geeignet, weil sie nach Verimpfung mit dem Einreibverfahren an den eingeriebenen Blättern junger Tabakpflanzen an jeder einzelnen Infektionsstelle einen deutlichen Fleck (Einzelherd) erzeugen. Aus der Zahl der Einzelherde lassen sich Schlüsse auf die Viruskonzentration der verimpften Säfte bzw. ihrer Verdünnungen ziehen.

II. Versuche zum Vergleich der Vermehrungsgeschwindigkeit.

Versuch I. Am 2. Juli 1940 wurden die Säfte aus Blättern von älteren Tabakpflanzen, die im Jugendstadium mit den Stämmen Us, Cs 37 und Bf infiziert worden waren, auf je 12 junge Pflanzen des Samsuntabaks durch Aufreiben auf zwei Blätter verimpft. Die Säfte wurden vorher zur Entfernung der gröberen Bestandteile durch Glaswatte filtriert.

Am 4., am 6. und am 10. Juli 1940 wurden die Säfte aus den eingeriebenen Blättern von drei Pflanzen jeder Reihe ausgepreßt. Die zum selben Stamm gehörigen Säfte wurden gemischt und dann auf drei junge Pflanzen des Samsuntabaks an je zwei Blättern etwa übereinstimmender Größe aufgerieben. Die restlichen 3×3 Pflanzen dienten zur Kontrolle des Virustiters

der verimpften Säfte; sie wurden stehengelassen, bis sich die Einzelherde so deutlich entwickelt hatten, daß sie gezählt werden konnten.

Die in den Versuchsserien ermittelten Durchschnittswerte je Blatt sind in Tab. 1 jeweils unter der Rubrik „Rohwerte" verzeichnet.

Tabelle 1.
Anzahl Einzelherde je Blatt.

Tag der Impfung	Virusstämme					
	Cs 37		Us		Bf	
	Rohwerte	Korr. Werte	Rohwerte	Korr. Werte	Rohwerte =	Korr. Werte
4. 7. 1940. . . .	31,0	**9,7**	9,0	**5,3**	0,3	**0,3**
6. 7. 1940. . . .	57,5	**18,0**	69,8	**40,8**	7,8	**7,8**
10. 7. 1940. . . .	283,6	**88,6**	199,7	**116,8**	53,4	**53,4**

Um ein Maß der Vermehrungsgeschwindigkeit zu erhalten, müssen diese Werte entsprechend dem Virustiter der Ausgangssäfte, der aus der Infektionsdichte zu errechnen ist, korrigiert werden. Die Zahl der Einzelherde betrug bei der Kontrollzählung an je drei Pflanzen (Durchschnittswerte je Blatt):

bei Cs 37 159,3
„ Us 85,3
„ Bf 49,8

Das Verhältnis der Infektionsdichten ist demnach 159,3: 85,3: 49,8 = 3,2: 1,7: 1. Die gefundenen Werte für Cs 37 sind demnach mit $^1/_{3,2}$, die für Us mit $^1/_{1,7}$ zu multiplizieren; daraus ergeben sich dann die korrigierten Werte (Tab. 1, fettgedruckt). Trägt man die korrigierten Werte in ein Koordinatensystem ein, so ergeben sich die aus Abb. 1 ersichtlichen Vergleichskurven, die zeigen, daß sich Us weitaus am schnellsten und Bf am langsamsten vermehrt, und daß Cs 37 eine Mittelstellung einnimmt.

An Stelle des in Versuch I verwendeten Verfahrens, wobei das Blatt in seiner Gesamtheit zur Saftgewinnung ausgepreßt wird, kann auch ein umständlicheres gewählt werden, das darin besteht, daß nur die auf dem Blatt erscheinenden zerstreuten Einzelherde mitsamt einem sie umgebenden kreisförmigen Blattstück ausgeschnitten und zur Saftgewinnung verwendet werden. Die Blattstücke werden mit einem Korkbohrer von ca. 9 mm Durchmesser über einer Glasplatte aus dem Blatt ausgestanzt, wobei darauf zu achten ist, daß die Infektionsstelle möglichst zentral in den Ausschnitt zu liegen kommt. Eine bestimmte Anzahl Ausschnitte werden vereinigt und quantitativ ausgepreßt. Der Saft wird in einer bestimmten Menge Wasser aufgenommen, gut durchgemischt, durch Glaswatte filtriert und sodann auf die Blätter der Testpflanzen aufgerieben.

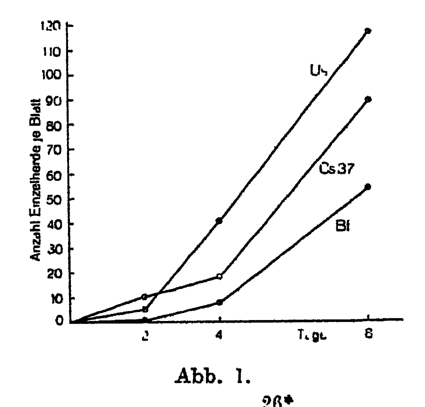


Abb. 1.

Dieses „Einzelherdverfahren" hat den Nachteil, daß mit dem Auspressen gewartet werden muß, bis die Einzelherde gut entwickelt sind, was beim Stamm Bf erst nach frühestens 7 Tagen der Fall ist. Nach 7 Tagen können aber die Einzelherde von rasch sich vermehrenden Viren schon über den Blattausschnitt von 9 mm Durchmesser hinausgewachsen sein.

Versuch II. Zu dem Versuch wurden am 15. Mai 1941 je 15 junge Tabakpflanzen (Samsun) an zwei Blättern durch Einreiben mit dem Spatel beimpft. Um die erforderliche Zerstreuung und Isolierung der Einzelherde auf den Blättern herbeizuführen, wurden die Säfte in der Verdünnung 1:1000 eingerieben. Am 21. Mai, also 5 Tage später, wurden von den Stämmen Us und Cs 37 je 35 Einzelherde ausgestanzt, in 4 ccm Wasser aufgenommen, zerdrückt und filtriert. Sodann wurden die Säfte auf je 5 Pflanzen der Tabaksorte White Burley (an einem Blatt) durch Einreiben mit feiner Baumwollgaze verimpft. Der Stamm Bf war nicht im Versuch, da dessen Einzelherde nach 5 Tagen am Samsuntabak erst teilweise zu sehen sind. Die Zählung der an den White Burley-Blättern erschienenen Einzelherde wurde am 30. Mai vorgenommen. Folgende Werte (Tab. 2) wurden dabei erhalten:

Tabelle 2.

Anzahl Einzelherde.

	Stamm Us		Stamm Cs 37
Pflanze Nr. 1	152	Pflanze Nr. 1	31
„ „ 2	200	„ „ 2	68
„ „ 3	329	„ „ 3	24
„ „ 4	181	„ „ 4	17
„ „ 5	273	„ „ 5	17
Gesamt:	1135	Gesamt:	157

Auf den Blättern sind sonach durch den Stamm Us rund 7,2 mal mehr Einzelherde erzeugt worden als durch den Stamm Cs 37. Der Saft aus 35 Us-Einzelherden erwies sich demnach um ein Mehrfaches infektiöser als der Saft aus der gleichen Zahl Cs 37-Einzelherden. Daraus scheint hervorzugehen, daß sich der Stamm Us beträchtlich schneller im Samsunblatt vermehrt als der Stamm Cs 37. Das diesbezügliche Ergebnis von Versuch I wird hierdurch bestätigt.

Versuch III. Am 28. April 1941 wurden je 15 junge Tabakpflanzen (Samsun) an 1 Blatt durch Einreiben mit Säften der 3 Stämme (Verdünnung 1:10 000) beimpft. Sieben Tage später wurden je 35 Einzelherde ausgeschnitten, ausgepreßt und die Säfte auf 4 Pflanzen der Tabaksorte Samsun und 2 Pflanzen der Tabaksorte White Burley an 2 Blättern verimpft. Da an dem unteren der beiden eingeriebenen Blätter der Samsunpflanzen bei Bf z. T. nur undeutliche Einzelherde erschienen, konnte bei allen 3 Stämmen eine sichere Zählung nur an den oberen Blättern vorgenommen werden. Das Ergebnis der Zählung ist aus Tab. 3 ersichtlich.

Daraus geht hervor, daß sich der Stamm Bf auf beiden Tabaksorten am langsamsten vermehrt hat; das Ergebnis von Versuch I wird damit bestätigt. Die Ausschnitte von Us und Cs 37 stimmen jetzt bezüglich des Virusgehaltes miteinander überein (Us scheint sogar von Cs 37 überflügelt zu sein, jedoch kann man die Differenz kaum als gesichert ansehen). Die Übereinstimmung ist von vornherein von dem Zeitpunkt an zu erwarten, in dem beide Virusstämme das Vermehrungsmaximum in den Ausschnitten er-

Tabelle 3.

Tabak-Sorte	Pflanze	Anzahl Einzelherde je Blatt Virusstämme Us	Cs 37	Bf
Samsun	Nr. 1	51	82	2
	„ 2	89	168	12
	„ 3	102	63	21
	„ 4	77	239	30
	Gesamt:	319	552	65
White Burley	Nr. 1	200	356	113
	„ 2	242	212	41
	Gesamt:	442	568	154

reicht haben. Dieser Zustand wird demnach bei dem Stamm Cs 37 am 7. Tag, bei Us schon früher und bei Bf später erreicht.

III. Versuche zur Bestimmung des Infektionsgrades der Virusstämme.

Man könnte gegen die Annahme, daß die mit dem Saft aus den beimpften Blättern erzielten Werte ein getreues Abbild der in diesen Blättern erreichten Viruskonzentration seien, den Einwand erheben, daß diese Werte stark von einer möglicherweise vorhandenen unterschiedlichen spezifischen Infektiosität der Virusstämme gegenüber der Testpflanze beeinflußt sein könnten. Würde dies zutreffen, so wären unsere Feststellungen bezüglich der Vermehrungsgeschwindigkeit in Frage gestellt. Es war daher notwendig, zu prüfen, ob eine solche unterschiedliche Infektiosität vorhanden ist.

Eine Methode der vergleichenden Messung des Infektiositätsgrades von Virusstämmen war mir nicht bekannt. Ich versuchte es daher mit dem im folgenden beschriebenen Nadelstichverfahren.

Als Viruslieferanten dienten kurz zuvor ausgewachsene Blätter von lebhaft wachsenden älteren Pflanzen des Samsun-Tabaks, die in ihrer Jugend mit dem betreffenden Stamm durch Blatteinreibung infiziert worden waren. Solche Blätter zeigen die Mosaik-Symptome in besonders kräftiger Ausbildung. Zur Vornahme des Testes wurde das Blatt abgeschnitten und mit der Unterseite auf ein ausgewachsenes, nicht zu altes Blatt einer White Burley-Pflanze gelegt. Sodann wurden mit einer feinen Insektennadel eine bestimmte Anzahl (25 oder 50) Stiche durch die beiden Blätter geführt. Dabei mußte darauf geachtet werden, daß das Samsunblatt nur an solchen Stellen durchstochen wurde, an denen auf Grund des Fleckungsmusters anzunehmen war, daß in ihnen das Virus in höchster Konzentration enthalten war. Es wurde an jedem Blatt jeweils nur die linke Hälfte mit einem der Stämme Bf oder Cs 37 beimpft, die rechte Hälfte zum Vergleich mit dem Stamm Us. Der Versuch wurde mehrmals wiederholt. Die Zahl der angegangenen Infektionen war in allen drei Versuchen gering. Die Versuche sind auf Tab. 4 zusammengefaßt. (Im Zähler ist die Zahl der angegangenen Infektionen, im Nenner die Zahl der ausgeführten Nadelstiche angegeben.) Unter Zugrundelegung der Gesamtwerte besteht zwischen Cs 37 und Us völlige Übereinstimmung. Bei Bf sind von 125 Stichen zwar nur 2 ange-

Tabelle 4.
Anzahl Infektionen bei Nadelstichen.

	Cs 37	Bf	Us	
Versuch I (2. 7. 1941)	1/25	1/25	1/25	1/25
„ II (24. 7. 1941)	2/50	0/50	1/50	1/50
„ III (30. 9. 1941)	1/50	1/50	2/50	2/50
Gesamtwerte:	4/125	2/125	4/125	4/125

gangen, also 2 weniger als bei den anderen Stämmen, aber diese sehr geringe Differenz ist nicht gesichert. Man darf also aus den Ergebnissen schließen, daß ein wesentlicher Unterschied in bezug auf Infektiosität zwischen unseren 3 Stämmen nicht vorhanden ist.

IV. Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß sich die drei hochnekrotischen Stämme (Varianten) des Kartoffel-X-Virus, nämlich Us, Cs 37 und Bf mit unterschiedlicher Geschwindigkeit in den Blättern des Samsuntabaks vermehren, auf die sie mit dem Safteinreibeverfahren verimpft werden. Am schnellsten vermehrt sich „Us“, weniger schnell „Cs 37“ und am langsamsten „Bf“ (vgl. Kurvenbild S. 403).

Um dem möglichen Einwand zu begegnen, daß die in den Versuchen zwischen den drei Virus-Stämmen nachgewiesenen Unterschiede nicht sowohl durch deren spezifische Vermehrungsgeschwindigkeit als vielmehr durch eine unterschiedliche spezifische Infektiosität verursacht seien, wurde versucht, die drei Stämme hinsichtlich ihrer Infektiosität gegenüber dem White Burley-Tabak, einer der verwendeten Testpflanzen, zu vergleichen. Die Methode (Nadelstichverfahren) wird beschrieben. Im Durchschnitt der Versuche ergab sich kein nennenswerter diesbezüglicher Unterschied zwischen den Virusstämmen.

Schriftenverzeichnis.

1. Bennet, C. W., Journ. Agric. Res. Vol. 54. 1937. p. 479; Vol. 60. 1940. p. 361. — 2. Jensen, J. H., Phytopath. Vol. 23. 1933. p. 964; Vol. 27. 1937. p. 69. — 3. Kausche, G. A., Biol. Zentralbl. Bd. 60. 1940. S. 423. — 4. Kohler, E., Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 48. 1938. S. 118. — 5. McKinney, H. H., Phytopath. Vol. 16. 1926. p. 893. — 6. Melchers, G. und Schramm, G., Naturwiss. Bd. 28. 1940. S. 476. — 7. Smith, K. M., Recent advances in the study of plant viruses. London 1933.

Mykologische Notizen II[1].

4. Phialophora mustea sp. nov., 5. Centrospora ohlsenii gen. nov., sp. nov., 6. Stemphylium petroselini sp. nov.

[Aus J. E. Ohlsens Enkes phytopathologischem Laboratorium, Kopenhagen.]

Von **Paul Neergaard.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

4. Phialophora mustea sp. nov. Im März 1941 empfing ich vom Laboratoriendirektor Albert Hansen, Alfred Jørgensens gæringsfysiologiske Laboratorium, Kopenhagen, eine Reinkultur eines Hyphomycets, isoliert aus Apfelmost. Der Pilz erschien im Most teils als ein lockerer, schwebender, weißlicher Schimmelklumpen gerade über dem Flaschenboden, teils als ein Belag auf der Innenseite des Crownkorks; weiter kann anscheinend der Schimmel den Most dunkel färben. Es folgt daraus, daß das Auftreten des Schimmels den Most als Handelsgut wertlos macht.

Eine nähere Untersuchung des Pilzes ergab, daß es sich um eine bisher nicht beschriebene Art von Phialophora handelte, eine eigentümliche Pilzgattung (mit sog. „endogener“ Konidienbildung), die früher nicht in Dänemark festgestellt wurde.

Es wurde später aufgeklärt, daß Alfred Jorgensens gæringsfysiologiske Laboratorium insgesamt 4 von Phialophora infizierte Proben, aus vier verschiedenen Örtlichkeiten in Dänemark eingesandt, erhalten hatte, und zwar aus zwei Orten in Südseeland (Proben empfangen im April 1940 und April 1941), aus der Aarhus-Gegend (November 1940) und aus Langeland (Februar 1941). Die vier Proben repräsentierten 5% der Proben, die dem Laboratorium während des Zeitraums 1. Sept. 1940 bis 1. Sept. 1941 zugegangen waren.

Der Pilz wurde auf Malzextrakt-Agar[2]) und synthetischem Nähragar[3]) untersucht. Die Entwicklung des Pilzes wurde „im hängenden Tropfen“ in einer Böttcher-Kammer studiert.

Beschreibung: Hyphen hyalin bis bräunlich, 2—4 μ breit, septiert, zuweilen mit vielen Öltröpfchen. Phialiden flaschenförmig, vereinzelt oder gruppenweise, entweder direkt auf den Hyphen, auf kurzen Seitenästen oder endständig, 5—10 μ lang, 2—3 μ breit. Konidien (Phialosporen) massenhaft, hyalin, zylindrisch bis ellipsoidisch bis eiförmig, einzellig, ohne oder mit 1, 2 oder 3 Öltröpfchen, 2—12×1—3 μ (Durchschnitt von 25 Messungen: 5,9×1,6 μ). Endständige Konidien, die vielleicht als Aleurisporen aufgefaßt werden müssen.

[1]) Mykologiske Notitser (Mykologische Notizen) I. siehe Botanisk Tidsskrift (Kopenhagen). Bd. 44. 1938. S. 359—362.

[2]) 30 g Alfr. Benzons Malzextrakt + 15 g Agar + 1 l Wasser.

[3]) 1,36 g prim. Kaliphosphat + 1,06 g Natriumkarbonat + 5,0 g Magnesiumsulfat + 5,0 g Dextrose + 1,0 g Asparagin + 15 g Agar + 1 l Wasser.

sind zahlreich, breit birnförmig (das spitzere Ende ist das proximale), glatt, bräunlich, 4,5—7.5×3,0—6,0 μ (Durchschnitt von 25 Messungen: 6.3×4,9 μ).

Reinkulturen (10 Tage alte Kulturen in Petrischalen).

Malzextrakt-Agar: Durchmesser ca. 25 mm, Luftmyzel 2 bis 3 mm hoch, zottig, watteartig, weiß, in der Mitte slate-olive[1]). Substratmyzel spärlich, farbenlos, radiär ausstrahlend mit Neigung zur Linksdrehung.

Synthetischer Nähragar: Durchmesser ca. 10 mm, Luftmyzel 2—3 mm hoch, light mineral gray bis hathi gray. Substratmyzel farbenlos, spärlich, mit bloßem Auge nicht sichtbar.

Bei Zimmertemperatur ist die Fruktifikationsperiode für die Konidien kürzer als 2×24 Std., fur die Aleurisporen etwa 3×24 Std.

Soweit mir bekannt, hat man fruher bei Arten der Phialophora-Gattung Aleurisporen nicht festgestellt.

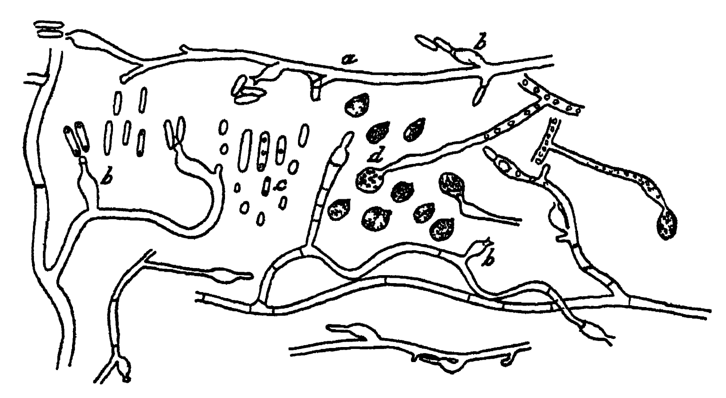


Abb. 1. Phialophora mustea: a) Junge, noch unseptierte Hyphe mit Phialiden; b) Phialiden; c) Konidien; d) Aleurisporen. Vergr. 600mal.

Diagnose:

Phialophora mustea sp. nov. Hyphis hyalinis-brunneis, 2—3 μ, septatis, interdum multiguttulatis. Phialidibus hyalinis ampullaeformibus, solitariis vel fasciculatis, lateralibus vel terminalibus, 5 bis 10×2—3 μ. Conidiis (Phialosporis) numerosissimis, hyalinis, cylindraceis-ellipsoideis-ovatis, continuis, eguttulatis vel 1-2-3-guttulatis, 2—12×1—3 μ. Conidiis terminalibus (Aleurisporis?) numerosis, late piriformibus, continuis, brunneis 4,5—7,5×3,5—6,0 μ.

Hab. in musto mali in Dania (Albert Hansen).

Von der Institution Statens plantepatologiske Forsøg, Lyngby, Dänemark, welche auch von Alfred Jørgensens gæringsfysiologiske Laboratorium eine Subkultur des hier erwähnten Isolates erhalten hat, hat Frl. cand. hort. Gudrun Johansen mir freundlichst mitgeteilt, daß ein Infektionsversuch, welchen sie mit dem Pilz auf verletzte Apfelfrüchte (Cox Pomona) vorgenommen hat, ein negatives Resultat ergeben hat. Die geimpften Früchte standen 4 Wochen bei 16—19° und 7—10° C.

5. Centrospora ohlsenii gen. nov., sp. nov. Im April 1941 fand ich am Wurzelhalse einer Petersilienwurzel, die in einem Gemüseladen

---

[1]) Farbenbestimmungen und Farbenbezeichnungen nach Ridgway: Color Standards and Nomenclature. Washington 1912.

in Kopenhagen eingekauft war, einen eigentümlichen Pilz, dessen Einreihung in eine schon beschriebene Gattung nicht gelungen ist.

Der Pilz, der wie die obenerwähnte Art auf Malzextrakt-Agar und synthetischem Nähragar untersucht wurde, sporulierte sehr spärlich; auf Malzextrakt-Agar erschienen überhaupt keine Sporen, auf synthetischem Nähragar nur während des ersten Monats nach der Isolation. Einige Ver-

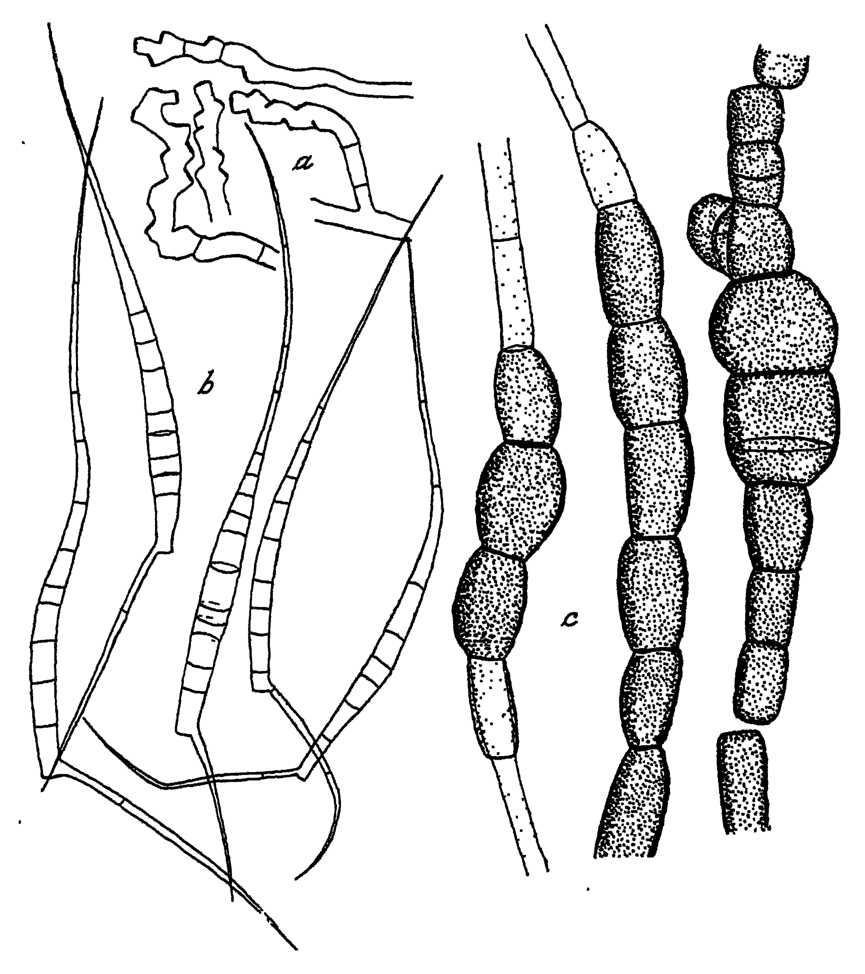


Abb. 2. *Centrospora ohlsonii*: a) Konidienträger, b) Konidien, c) Chlamydosporen. Vergr. 600mal.

suche, die Sporulationsfähigkeit durch Züchtung teils in Rollkulturen auf synthetischem Nähragar, teils auf autoklavierten Stückchen einer Petersilienwurzel und endlich teils durch Zerschneiden und Austrocknen von Petrischalenkulturen zu stimulieren, hatten keinen Erfolg.

B e s c h r e i b u n g: Die H y p h e n sind a) hyalin bis subhyalin, 2—6 μ breit, septiert oder b) bräunlich bis braun, 6—12 μ breit, stark septiert (etwa 15 μ je Septe). Die Hyphenzellen, die sich an den Septierungen

leicht zertrennen lassen, sind stellenweise kugelig verdickt (Chlamydosporen, Abb. 2c) und bis zu 30 μ breit; sie kommen in den Hyphen einzeln oder als Ketten vor.

Die Konidienträger (Abb. 2a) stehen einzeln, sind hyalin und unverzweigt oder mit einem einzigen Seitenästchen, unseptiert oder 1—2-septiert, stark gekrümmt, 7—8 μ breit, mit vielen etwa 7 μ breiten, schrägen Einschnitten (Konidien-Narben).

Die Konidien (Fig. 2c) sind hyalin, umgekehrt verlängert-keulig, sich gegen das distale, wie fadenartig ausgezogene Ende stark verschmälernd, 6—12-septiert, 135—203×6—9 μ (Durchschnitt von 20 Messungen: 170,6×7,4 μ). Die meisten Konidien sind mit einem nach unten gekehrten, der Seitenwand der Basalzelle entspringenden hahnspornähnlichen Anhängsel versehen, das zugespitzt und fadenförmig ausgezogen, unseptiert oder 1—2-septiert, 30—150×2,3—3,0 μ ist (Durchschnitt von 20 Messungen: 66,4×2,4 μ).

Reinkulturen (12 Tage alte Kulturen in Petrischalen).

Malzextrakt-Agar: Luftmyzel spärlich, wie Spinngewebe, pale drap-gray bis pale ecru-drap. Substratmyzel radiär ausstrahlend (mit dicken Hyphen), dark grayish olive.

Synthetischer Nähragar: Luftmyzel etwa 1 mm hoch, watteartig, weiß bis pale drap gray bis light cinnamon drap. Substratmyzel „krausen" Wuchses, weiß, eingesprengt mit Kleinpartien mit groben „Myzelstrahlen" von hair brown Farbe.

Der Pilz ist sicher — trotz der Neigung der Hyphen zum Braunfärben — bei Mucedinaceae unterzubringen, näher bezeichnet bei Hyaloscolecosporae, und ist also mit Cercosporella nahe verwandt. Der Pilz weicht durch das eigentümliche hahnspornähnliche Konidienanhängsel von den bisher bekannten Gattungen scolecosporer und phragmosporer Hyphomyzeten ab.

Die vielen Konidien-Narben an den Seiten der Konidienträger deuten darauf hin, daß der Pilz pleurogene Konidienanordnung hat, es sei denn, daß die Konidien in derselben Weise wie für Stemphylium botryosum nachgewiesen gebildet werden (Miyabe, 1889; Wiltshire, 1938). Die Konidien werden bei dieser Art acrogen gebildet, bisweilen aber zwingt das fortgesetzte Wachstum des Konidienträgers die ursprünglich endständige Spore auf die Seite des Sporenträgers hinab (sympodialer Wuchs). Dieser Prozeß kann sich mehrmals wiederholen, so daß die Anbringung der Konidien einem Traubenbüschel ähnlich wird, während der Wuchs des Konidienträgers mehr oder weniger zickzackförmig wird. Nach dem krummen Wuchs der Konidienträger unseres Pilzes zu urteilen, ist es sehr wohl denkbar, daß bei dieser Art die Bildung der Konidien ganz wie bei Stemphylium botryosum vor sich geht — leider verhinderte die schwache Sporulation des Pilzes eine nähere Untersuchung seines Entwicklungsganges.

Diagnosen:

Centrospora[1]) gen. nov. Hyphis hyalinis, subhyalinis vel brunneis, septatis. Conidiophoris hyalinis, solitariis, simplicibus vel ramosis, flexuosis, cicatricibus e conidiis dejectis pluribus, nunc lateralibus, obliquis vel fere transversalibus, nunc terminalibus instructis. Conidiis multiseptatis, anguste obclavatis, apice longe protractis, ad basim appendice

[1]) Das fur den Pilz charakteristische Konidienanhängsel erinnert an einen Hahnsporn, kentron.

longe acuminata e cellula basilari lateraliter oriente, deorsum vergente, uni-vel pluricellulari, instructis.

Centrospora ohlsenii[1]) sp. nov. Hyphis septatis, nunc hyalinis vel subhyalinis, 2—6 μ diam., nunc pallide brunneis vel brunneis 6—12 μ diam. (cellulis singulis ca. 15 μ long.), facile in cellulis singulis — saepe globosis, ad 30 μ diam. (chlamydosporis) — secedentibus. Conidiophoris hyalinis, solitariis, simplicibus vel ramosis, flexuosis, aseptatis vel 1—2-septatis, 7—8 μ diam., cicatricibus e conidiis dejectis pluribus, nunc lateralibus, obliquis vel fere transversalibus, nunc terminalibus, 7 μ diam., instructis. Conidiis 6—12-septatis, anguste obclavatis, apice longe protractis, 105—203×6—9 μ ad basim appendice longe acuminata e cellula basilari lateraliter oriente, deorsum vergente, aseptata vel 1—2-septata, 30—150×2,3—3,0 μ, instructis.

6. Stemphylium petroselini sp. nov. In Dänemark kommt am Wurzelhalse von Wurzelpetersilie und auf Samen und Keimen derselben und der krausen Petersilie (in Jacobsens Keimapparat gekeimt) sehr allgemein eine Pseudostemphylium-Art vor (über diese Untergattung von Stemphylium siehe Wiltshire, 1938), die ich früher unter dem Namen Alternaria radicina M., D. & E. und Stemphylium radicinum (M., D. & E.) Neerg. var. petroselini Neerg. nomen nudum (Neergaard, 1937; 1936—1941), erwähnt habe. Der Pilz ist morphologisch Stemphylium radicinum sehr nahestehend, unterscheidet sich jedoch deutlich von demselben teils morphologisch, teils kulturell. Die durchschnittlichen Sporenmaße auf Keimpflanzen von Petersilie, Petersilienwurzel und Möhre (50 Messungen pro Wirtspflanze) waren 41,2×21,0 μ (Isolat aus Petersilienwurzel) und 39,7×19,6 μ (Isolat aus Petersilie), während die entsprechenden Maße für Stemphylium radicinum, aus Möhre isoliert, auf denselben Wirtspflanzen 31,7×17,3 μ betrugen. Es wird deshalb in Vorschlag gebracht, den Petroselinum-Pilz unter dem Namen: Stemphylium petroselini sp. nov. als eine selbständige Art aufzustellen.

Sowohl Stemphylium radicinum als S. petroselini haben in Infektionsversuchen die Fähigkeit gezeigt, u. a. Möhre, Petersilienwurzel, Petersilie und Sellerie angreifen zu können. In der Natur habe ich dagegen bisher nur Stemphylium petroselini auf Petersilie und Petersilienwurzel und nur Stemphylium radicinum auf Möhre gefunden, niemals umgekehrt.

Da diese beiden Stemphylium-Arten in einige umfassende Untersuchungen über dänische Alternaria- und Stemphylium-Arten einbezogen sind, die in einer späteren Veröffentlichung eingehend besprochen werden, wird hier nur die Diagnose von Stemphylium petroselini angeführt.

Diagnose:

Stemphylium petroselini sp. nov. Hyphis subhyalinis vel pallide brunneis, septatis, 4—9 μ diam. Conidiophoris solitariis, simplicibus vel rarius ramosis, septatis, saepe unigeniculatis, pallide brunneis, lateralibus vel terminalibus, 10—120×4—8 μ, cicatrice e conidio dejecto terminale, saepiusque etiam laterali unica instructis. Conidiis acro-

---

[1]) Der Artname nach Ole Ohlsen (1781—1845), dem Gründer der Samenfirma J. E. Ohlsens Enke, Kopenhagen.

genis, ellipsoideis, ovoideis vel late obpiriformibus, transverse 1—5-septatis, longitudinaliter 1—6-septatis, ad septa saepe leviter constrictis, brunneis, 15—96×12—33 μ.

Hab. ad radices, semina et plantulas germinantes Petroselini sativi in Dania.

Ich wünsche hierdurch Herrn Professor Dr. phil. C. Ferdinandsen für die lateinische Übersetzung der Centrospora - Diagnosen und für die Durchsicht der übrigen Diagnosen meinen besten Dank auszusprechen. Auch bin ich Herrn Amanuensis, cand. mag. N. F. Buchwald für die Durchsicht des Manuskriptes viel Dank schuldig.

Zusammenfassung.

Es werden drei dänische Pilzarten mit lateinischen Diagnosen neu beschrieben: 1. Phialophora mustea sp. nov., aus Apfelmost isoliert; 2. Centrospora ohlsenii gen. nov., sp. nov. vom Wurzelhalse der Petersilienwurzel; die Gattung wird in die Hyaloscolecosporae innerhalb der Mucedinaceae eingereiht; 3. Stemphylium petroselini sp. nov. von Petersilienwurzel und Petersilie — eine dem Stemphylium radicinum (M., D. & E.) Neerg. nahestehende Art.

Schrifttum.

Miyabe, K., On the life history of Macrosporium parasiticum Thüm. (Ann. Bot., London. Vol. 3. 1889. p. 1—26.) — Neergaard, Paul, Attacks of Alternaria radicina on celery and carrot. (Roy. Vet. Agr. Coll., Yearbook 1937, reprint 1936. p. 1—42.) — Neergaard, Paul, [1.—]6. Aarsberetning fra J. E. Ohlsens Enkes Plantepatologiske Laboratorium, København 1936—1941. — Wiltshire, S. P., The original and modern conceptions of Stemphylium. (Trans. Brit. Myc. Soc. Vol. 21. 1938. p. 211—239.)

Schädigungen weiterer Warmhauszierpflanzen durch die Milbe Avrosia translucens Nietner.

[Aus der Dienststelle für Zierpflanzenkrankheiten und -schädlinge an der Biologischen Reichsanstalt, Zweigstelle Kiel.]

Von **H. Pape.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

In einer unlängst in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit wurde von mir (Pape, 1941) über eine durch die Milbe Avrosia translucens Nietner hervorgerufene korksuchtartige Erkrankung der Elatior-Begonien berichtet. Inzwischen hatte ich Gelegenheit, dieselbe Milbenart[1]) auch noch an verschiedenen anderen Warmhauszierpflanzen aufzufinden, an denen z. T. ähnliche Schädigungen wie an den Elatior-Begonien zu beobachten waren. Da diese Feststellungen, aus denen eine ungewöhnlich vielseitige Anpassungsfähigkeit dieser Milbenart hervorgeht, für die Wissenschaft neu sind, sei hier kurz einiges darüber mitgeteilt.

---

[1]) Die Nachbestimmung wurde freundlichst von Herrn Dr. Graf Vitzthum, München, vorgenommen, dem ich auch an dieser Stelle besten Dank dafür sage.

1. Schäden an Aphelandra.

Mitte Juli 1941 erhielt ich aus einem Gartenbaubetrieb Mitteldeutschlands einige kranke Topfpflanzen von Aphelandra squarrosa Leopoldii, deren Kultur in den letzten Jahren von verschiedenen Handelsgärtnereien in größerem Umfange aufgenommen worden ist, zur Untersuchung. Während die älteren Blätter normal ausgebildet waren und



Abb. 1. Von Avrosia translucens befallene und infolgedessen verkrüppelte Triebspitze von Aphelandra squarrosa Leopoldii.



Abb. 2. Befallene Blätter von Aphelandra squarrosa Leopoldii mit Verkorkungen auf der Unterseite und Verkrüppelungen. Links gesundes Blatt.

keinerlei Beschädigungen aufwiesen, waren die jüngeren Blätter an den Triebenden teilweise gekrümmt oder eingerollt und mehr oder weniger verkrüppelt (Abb. 1). Blattunterseits waren bei diesen Blättern die zwischen den Rippen gelegenen Flächen der Spreite teilweise oder vollständig gebräunt und verkorkt, die Rippen selbst dagegen normal grün und unverkorkt (Abb. 2). Es war also ganz das gleiche Schadbild, wie es die von Avrosia

translucens befallenen Elatior-Begonien zeigten. An den kranken Blättern konnten mit starker Lupe blattunterseits einzelne langsam umherkriechende, weißliche bis gelbliche Milben entdeckt werden. Die Bestimmung ergab Avrosia translucens Nietner.

Der betreffende Gärtnereibesitzer hatte die Schäden seit 2 Jahren in seinen Aphelandra-Kulturen beobachtet und sie zunächst auf Blasenfuß- (Thrips-) Befall zurückgeführt. Pflanzen mit verkrüppelten Blättern blieben für ihn unverkäuflich.

2. Schäden an Gloxinien.

Ende Juli und Anfang August 1941 wurden mir vom Mykologischen Laboratorium der Biologischen Reichsanstalt bzw. vom Institut fur gärtnerischen Pflanzenbau in Berlin-Dahlem kranke Gloxinien (Sinningia speciosa) zur Untersuchung zugesandt, die aus den Gewächshauskulturen



Abb. 3. Von Avrosia translucens befallene (links) und nicht befallene (rechts) Gloxinie.

(Abteilung Zierpflanzenbau) der Versuchs- und Forschungsanstalt fur Gartenbau in Berlin-Dahlem stammten. Bei den Pflanzen war das „Herz", d. h. das Triebende mit den jüngsten Laubblättern und den in ihren Achseln sitzenden, noch ganz kleinen Blütenknospen, verkrüppelt und verkümmert und zum Teil unter Bräunung abgestorben und eingetrocknet. Die älteren Blätter waren dagegen unversehrt (Abb. 3 u. 4). Die Untersuchung der kranken Teile mit starker binokularer Lupe ergab auch hier die Anwesenheit der Milbe Avrosia translucens Nietner.

Die Schäden an den Gloxinien traten, wie mir Herr Dr. Storck vom Institut für gärtnerischen Pflanzenbau in Berlin-Dahlem freundlichst mitteilte, in den Gewächshäusern der Versuchs- und Forschungsanstalt für Gartenbau bereits seit einigen Jahren auf. Im Jahre 1940 waren sie schon erheblich. Im Jahre 1941 war ein Teil der Gloxinienbestände stark befallen. An anderen Pflanzenarten hatte man dort ähnliche Erscheinungen bisher nicht wahrgenommen.

Aus dem Schrifttum sind mir keine sicheren Angaben uber solche Gloxinienschädigungen bekannt. Es ist möglich, daß die von der dänischen Staatlichen Pflanzenpathologischen Versuchsanstalt (1940) mitgeteilte Beobachtung über ein schädigendes Auftreten einer *Tarsonemus*-Art an verschiedenen Warmhauspflanzen, darunter auch Gloxinien, in einer Gärtnerei bei Frederiksdal sich in Wirklichkeit auf *Avrosia translucens* bezogen hat. Auch ist es nicht ausgeschlossen, daß es sich bei dem von der Abteilung für gärtnerischen Pflanzenschutz in Pillnitz über das Pflanzenschutzamt Dresden an die Biologische Reichsanstalt in 2 Fällen gemeldeten *Tarsonemus*-Befall an Gloxinien (April 1939 im Kreis Dresden, Juni 1940 im Kreis Rochlitz i. Sa.) um unseren Schädling gehandelt hat. Nähere Einzelheiten fehlen bei den Meldungen leider.

3. Schäden an verschiedenen Warmhauszierpflanzen.

Im Juli 1941 empfing ich durch das Mykologische Laboratorium der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem kranke Triebe verschiedener Warmhauszierpflanzen (*Episcia fulgida*, *Impatiens Sultani*,



Abb. 4. Langsschnitte durch Triebenden von Gloxinien. Links: von *Avrosia translucens* befallen, rechts: nicht befallen.

Sonerila margaritacea, *Strobilanthes maculatus* u. a. [siehe die Liste weiter unten]) zur Begutachtung. Das Material war von dem wenige Wochen danach verstorbenen Oberinspektor des Staatlichen Botanischen Gartens in Berlin-Dahlem, E. Simon, zur Untersuchung eingereicht worden und stammte aus den Anzuchthäusern des genannten Botanischen Gartens. An den Trieben waren die jüngsten, erst wenig entwickelten Blätter und die Triebspitzen mehr oder weniger stark verkrüppelt und verkümmert und teilweise unter Bräunung eingetrocknet. Die Blattspreiten waren dabei unterseits stellenweise verkorkt und ihr Rand hier und da nach innen eingekrümmt. Die älteren Blätter dagegen waren normal ausgebildet und unversehrt (Abb. 5 u. 6). An den kranken Trieben fanden sich außer vereinzelten Erwachsenen und Jungtieren der Schmierlaus *Pseudococcus adonidum* (L.) Westw. Milben, die bei genauerer Untersuchung als der Art *Avrosia translucens* Nietner zugehörig erkannt wurden. Wenn auch in vorliegendem Fall ein Teil der Schädigungen durch die Schmierläuse hervorgerufen sein mochte, so dürften doch als Hauptschädiger die Milben anzusehen sein. Das wurde durch den Befund an neuem Untersuchungs-

material[1]) bestätigt, das im Oktober 1941 aus dem Botanischen Garten in Berlin-Dahlem erhalten wurde: Es fanden sich diesmal keine Schmierläuse,



Abb. 5. Von Avrosia translucens befallene Triebspitzen verschiedener Warmhauspflanzen. Von links nach rechts: Strobilanthes maculatus, Sonerila margaritacea, Impatiens Sultani-Hybride.



Abb. 6. Infolge Befalls durch Avrosia translucens verkrüppelte Triebspitzen und Blätter von Impatiens Holostii-Hybriden.

[1]) Herrn Reviergartner Gagstetter bin ich für freundliche Überlassung dieses Materials dankbar.

sondern nur Milben auf den kranken Pflanzenteilen, die im übrigen die gleichen Schädigungen aufwiesen wie das erste Material.

Wie Oberinspektor Simon mir noch brieflich mitteilte, hatte er diese Erkrankung der Warmhauspflanzen, die ihm bereits seit mehreren Jahren zu schaffen machte, zuerst vielfach als Wachstumsstockungen (nicht näher bekannter Ursache) angesehen, später dann aber nach Auffindung von Milben auch schon auf Milbenbefall zurückgeführt. Von Oberregierungsrat Dr. Zacher, Berlin-Steglitz, sei ihm über die Milben 1938 folgendes geschrieben worden: „Ich kann Ihnen mitteilen, daß es sich bei den übersandten Milben um Angehörige der Gattung *Tarsonemus* handelt. Die Art hat sich bisher nicht bestimmen lassen. Es ist anzunehmen, daß die Art noch nicht beschrieben, sondern für die Wissenschatt neu ist. Sie steht der Art *T. latus* Banks nahe."

Nach Angabe von Oberinspektor Simon waren folgende Warmhauspflanzen in den Anzuchthäusern befallen:

Alloplectus Lynchei
Begonia Browingiana
„ *Bunchii*
„ *foliosa*
„ *heracleifolia* u. deren Varietaten
„ *incarnata*
„ *isoptera*
„ *manicata* f. *cristata*
„ *Pearcei*
„ *phyllomaniaca*
„ *rex*-Hybriden
„ *rubrosetulosa*
„ *rubrovenia*
„ *Saundersii*
Bertolonia maculata
„ *marmorata*
„ *Wentii*
Centradenia floribunda
Columnea gloriosa v. superba
„ *hirta*
Columnea Kalbreyeri
„ *microphylla*
„ *Schiedeana*
Dissotis rotundifolia
Episcia cupreata
„ *fulgida*
„ *tesselata*
Impatiens Holostii-Hybriden
„ *Marianae*
„ *repens*
„ *Sultani*-Hybriden
Justicia Engleri
Kalanchoe laciniata
Nautilocalyx Forgetii
Saintpaulia ionantha
Sinningia (Gloxinia) speciosa
„ „ *hybrida*
Sonerila margaritacea und andere Arten
Strobilanthes Dyerianus
„ *maculatus*.

Besonders starken Befall zeigten die *Episcia*-Arten sowie *Impatiens Marianae*, *Impatiens Holostii*- und *Impatiens Sultani*-Hybriden.

Es erscheint mir nicht ausgeschlossen, daß es sich bei dem von der dänischen Staatlichen Pflanzenpathologischen Versuchsanstalt (1940) gemeldeten Schadauftreten einer *Tarsonemus*-Art an *Hoya*, *Stephanotis*, *Fatshedera* und *Hedera* in einer Gärtnerei bei Frederiksdal sowie bei früher schon an *Saintpaulia* und *Gloxinia* beobachteten Schäden um *Avrosia translucens* gehandelt hat.

4. Erfahrungen mit der Bekämpfung der Milbe.

Von dem Gärtnereibesitzer, der die kranken *Aphelandra*-Pflanzen zur Untersuchung eingesandt hatte, wurde die Bekämpfung der Milbe an *Aphelandra*-Mutterpflanzen, die zur Gewinnung gesunder Stecklinge dienten, mit dem kolloidalen Schwefelmittel Erysit (Hersteller: Fa. Schering A.-G., Berlin) durchgeführt, nachdem Behandlung (Spritzen und Tauchen) der Pflanzen mit Nikotin (3—4$^0/_{00}$ige Lösungen eines 98proz. Nikotins) so-

wie Begasungen mit Cyanogas die Plage nicht beseitigt hatten. Die Mutterpflanzen wurden Anfang August scharf zurückgeschnitten und nach Möglichkeit alle alten Blätter entfernt. Dann wurden die Pflanzen kopfüber mit den oberirdischen Teilen in 3—4proz. Erysitlösung getaucht. Dieses Tauchen wurde in Abständen von 8—10 Tagen 3—4mal wiederholt. Schon nach 4 Wochen war festzustellen, daß die Neuaustriebe gesund waren. Seitdem wurden die Pflanzen in Abständen von 14—20 Tagen nur noch mit 2proz. Erysitlösung gespritzt. Anfang November, also 3 Monate nach Beginn der Bekämpfung mit Erysit, berichtete der Gärtnereibesitzer mir: „Der Befall ist vollständig verschwunden und die Pflanzen zeigen ein sehr gesundes Aussehen.“ Auch nichtzurückgeschnittene Pflanzen wurden nach Mitteilung des Gärtnereibesitzers der gleichen Erysitbehandlung mit gutem Erfolg unterzogen. Nennenswerte Schäden an den Pflanzen ergaben sich nicht, wenn darauf geachtet wurde, daß die Bekämpfung nicht bei Sonnenschein durchgeführt wurde.

In den Anzuchthäusern des Botanischen Gartens in Berlin-Dahlem hatte sich nach Mitteilung von Oberinspektor Simon durch Spritzungen und Räucherungen mit Nikotinpräparaten nicht der gewünschte Erfolg gegen die Milbe erzielen lassen. Spritzungen mit 2proz. Erysitlösung schienen wirksamer zu sein, hatten jedoch vielfach Schädigungen der Warmhauspflanzen zur Folge. Die Durchführung weiterer Bekämpfungsversuche nach meinen Vorschlägen mit anderen Mitteln (Spritzen mit oder Tauchen in Nikotinseifenlösungen, Petroleumseifenemulsion oder anderen Mineralölemulsionen usw.) unterblieb jedoch infolge des plötzlichen Ablebens von Oberinspektor Simon.

Zusammenfassung.

Es wird über Schädigungen einer weiteren Anzahl Warmhauszierpflanzen wie Aphelandra squarrosa Leopoldii, Sinningia speciosa, Episcia fulgida, Impatiens Sultani, Sonerila margaritacea, Strobilanthes maculatus u. a. durch die Milbe Avrosia translucens Nietner und Erfahrungen hinsichtlich ihrer Bekämpfung berichtet.

Schrifttum.

Pape, H., Die Milbe Avrosia translucens Nietner als Erreger einer korksuchtartigen Erkrankung der Elatior-Begonien. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 103. 1941. S. 80—90.) — Oversigt over Plantesygdomme. (244. — September 1940. Statens Plantepatologiske Forsøg.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Jörstad, I., Uredinales of Northern Norway. (Skrifter utgift av det Norske Videnskaps-Akademi i Oslo. I. Mat.-Naturv. Kl. Nr. 6. 1940. 145 S.)

Der durch seine umfangreichen Studien über Uredineen Skandinaviens, Kamtchatkas u. a. bekannte Verf. gibt in seinem neuen Buche einen umfassenden Überblick der im nördlichen Norwegen, nämlich in den zwischen 65 und 71° 11′ N. Br. liegenden Gebieten (Nordland, Troms und Finnmark) vorkommenden Vertreter von 18 Gattungen dieser wichtigen pflanzlichen Schmarotzerpilze.

Nach kurzem Eingehen auf die aus dem bisherigen Schrifttum gewonnenen Erkenntnisse (S. 7—12) folgt die Aufzählung und Besprechung der nachgewiesenen Vertreter der folgenden Gattungen (S. 12—111): Chrysomyxa, Coleosporium, Cronartium, Gymnoconia, Gymnosporangium, Hyalopsora, Melampsora, Melampsorella, Melampsoridium, Milesia, Ochrospora, Phragmidium, Puccinia, Pucciniastrum, Trachyspora, Tranzschelia, Triphragmium und Uromyces.

Anschließend (S. 111—112) werden 3 Rostarten genannt, die aus der nordnorwegischen Flora auszuschließen sind.

Es folgen (S. 112—114) 26 Arten, die zwar noch nicht im nördlichen Norwegen aufgefunden worden, aber dort zu erwarten sind. Besonders aufgeführt werden noch (S. 114—115) die 5 Rostarten und -wirte, die bisher ausschließlich im Norden, und 16 Vertreter, die außerdem weiter südlich in Norwegen beobachtet worden sind.

Eines der letzten Kapitel (S. 115—130) umfaßt die Biologie und Verbreitung der Roste im Gebiete von Tröndelag und im nördlichen Norwegen. Es folgt ein Wirtspflanzen-Index für die Roste von Tröndelag und Nordnorwegen.

Ein ausführliches Literaturverzeichnis bildet den Schluß.

Die sorgfältigen Beobachtungen und Herkunftsangaben liefern eine Fundgrube von Erkenntnissen, die jedem, der sich mit diesen wichtigen Pilzen befaßt, willkommen sind. *Wollenweber (Berlin-Dahlem).*

Allgemeines und Methodisches.

Mündel, O., u. Kühn, H. Ein selbsttätiger biologischer Test für die Prüfung von Autoklaven. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 233—235.)

Die Überprüfung von Autoklaven ist in einfachster und sicherster Weise durch Verwendung eines Glaskölbchens mit seitlichem Ansatzrohr möglich. Die Höhe des Gefäßes beträgt 8 cm, der Durchmesser des Bodens 4 cm. Das Ansatzrohr ist am Hals des Kölbchens in der Weise angebracht, daß seine Öffnung zum Kolben mit dem Wattebausch des Kölbchens verschlossen werden kann. Durchführung der Prüfung: Nach Füllung des Kölbchens mit etwas Nähragar und Sterilisation des mit zwei Wattestopfen verschlossenen Gefäßes werden in den seitlichen Ansatz einige Glasperlen mit angetrockneter Gartenerde gebracht. Die Perlen werden vor dem Antrocknen der Erde zweckmäßig mit Serum befeuchtet, wodurch die Erde besser haften bleibt. Während der Sterilisation ruhen die infizierten Perlen auf dem (in Gaze eingewickelten) Wattebausch des eigentlichen Kolbenhalses. Nach be-

endeter Sterilisation wird der Wattebausch etwas hochgezogen, und die Perlen fallen auf den Agar. Fehler, wie sie bei nachträglicher Übertragung von Testmaterial in Nährböden gegeben sind, können hierbei nicht vorkommen.

Rodenkirchen (Dresden).

Stundl, K., Ein einfaches Verfahren zur Ermittlung der Zahl physiologisch-wirksamer Wasserbakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 267—272.)

Die Erforschung des bakteriell bedingten Nährstoffkreislaufs der Gewässer und Abwässer erfordert neben der mengenmäßigen Erfassung der gebildeten und verbrauchten Stoffe auch zahlenmäßige Angaben der dabei beteiligten Mikroben. In Anlehnung an Beier werden hierzu natürliche Nährböden vorgeschlagen, und zwar bestehend aus dem sterilisierten natürlichen Wasser unter Zusatz desjenigen Stoffes, dessen Abbau festgetellt werden soll (bei Prüfung des Eiweißabbaus z. B. 0,2% Pepton). Die Verdünnung wird vom Verf. in 8 Stufen in doppelter Reihe vorgenommen, wozu nur 2 bzw. 3 Grundverdünnungen von 1:100 erforderlich sind. Aus diesen werden verschiedene Mengen (2,0, 1,0, 0,2, 0,1 und 0,02 ccm) in das Nährsubstrat gegeben. Hiermit wird ein Zahlenbereich zwischen 1 und 5000 bzw. 100 und 500 000 Bakterienzellen in 1 ccm des Untersuchungswassers erfaßt. Das Verfahren ist wesentlich einfacher als das Zehntelungsverfahren von Krombholz, das allerdings mit etwas geringeren Fehlermöglichkeiten behaftet ist. Gegenüber den auf Gelatine erzielbaren Keimzahlen wurden in Peptonlösung durchweg um mindestens das 10fache höhere Werte erhalten. *Rodenkirchen (Dresden).*

Kaiser, M., Ein einfaches Verfahren zum Reinigen von Objektträgern und Deckgläsern. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 351—352.)

Zur restlosen Entfettung von Objektträgern und Deckgläsern wird ein Brei aus Tierkohle und redestilliertem Wasser empfohlen. Dieser wird mit einem Tupfer aufgetragen, der aus einem geknöpften Glasstab durch Überziehen mit einem mehrfach gefalteten Rehleder hergestellt wird. Vor Gebrauch ist der Tupfer durch mehrtägigen Aufenthalt in 2 oder 3 Benzinbädern zu entfetten. Der Kohlebrei wird ½—1 Min. auf dem Glas verrieben und dieses dann unter der Wasserleitung abgespült. Als Unterlage für die Deckgläser beim Abreiben eignet sich am besten eine mit dem Brei bestrichene Glasplatte. Auf dem Brei kleben die Gläser fest, sie brauchen höchstens an einer Ecke mit dem Finger leicht festgehalten zu werden. Nach dem Abreiben werden sie an den Plattenrand geschoben und mit der Pinzette nach Kühn abgehoben. Zum Trocknen werden die Gläser senkrecht in den Trockenschrank gestellt. *Rodenkirchen (Dresden).*

Knöll, H., Über Bakterienfiltration. (Ergebn. d. Hyg., Immun.-Forsch. u. exp. Therapie. Bd. 24. 1941. S. 266—360.)

In kritischer Form sind alle Fragen der Bakterienfiltration einer ausführlichen Besprechung unterzogen worden. Die wichtigsten Teile der Arbeit betreffen die geschichtliche Entwicklung der Bakterienfiltration, Grundsätzliches über Bakterienfiltration, Allgemeines über Filter und Filtergeräte, die verschiedenen Filterarten, die experimentellen Grundlagen der Bakterienfiltration sowie das Vorkommen filtrierbarer Bakterienformen. Besondere Beachtung verdient der letzte Teil, indem auf die durch methodische Fehler

und falsche Versuchsdeutung bedingten, scheinbar positiven Ergebnisse von Bakterienfiltration eingegangen wird und die Mindestforderungen für das Arbeiten auf dem Gebiet filtrierbarer Bakterienformen erörtert werden. Eine große Schwierigkeit bereitet u. a. der sichere Nachweis der Belebtheit filtrierbarer Gebilde, da anscheinend leider noch keine Untersuchungen vorliegen über das Auftreten sowie die Form und die Färbbarkeit unspezifischer Nährbodenausfällungen. Die Bielingsche Atmungsprobe (Nitroanthrachinonreduktion), die von Lodenkämper als besonders brauchbar zur Beurteilung der „Lebendigkeit" von Bodensätzen erklärt wurde, liefert nach den Feststellungen Verf.s offenbar unspezifische Ergebnisse.

Rodenkirchen (Dresden).

Pels Leusden, Fr. und Tölle, W., Wachstumsförderung der Anaerobier durch Gelatine. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 147. 1941. S. 273.)

Die Anaerobendiagnose bereitet dadurch häufig Schwierigkeiten, daß anspruchsvolle Anaerobier in den flüssigen Differentialnährböden oft nicht zur Entwicklung kommen. Diese Wachstumshemmung läßt sich in den meisten Fällen durch Zusatz von 10% Gelatine überwinden.

Die Feststellung der Säuerung geschah durch nachträglichen Zusatz von steriler Lackmuslösung zu stark getrübter Kultur. Anaerobiose macht Lackmustinktur farblos. *Rodenkirchen (Dresden).*

Schmidt-Lange, W., Die keimtötende Wirkung des Bienengiftes. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 88. 1941. S. 935—936.)

Das Bienengift (geprüft an „Forapin" der Fa. Mack-Ulm) entfaltet neben der bekannten hämolytischen Wirkung auch eine ziemlich kräftige Bakterizidie. Diese richtet sich namentlich gegen Streptokokken und Mikrokokken, doch sterben auch Colibakterien bei 37° in 1prom. Lösung innerhalb von 2 Std. fast restlos ab. Auch im Keimträgerversuch trat die Wirkung des Bienengiftes noch deutlich in Erscheinung. Stoffe, wie Aktivkohle, Torf und Erde setzten die Bakterizidie — wie zu erwarten — herab, ohne sie indessen ganz aufheben zu können. *Rodenkirchen (Dresden).*

Mikrobielle Wirkstoffuntersuchungen.

Kuhn, R., Wieland, Th. und Möller, E. Fr., Synthese des x·y-Dioxy-β·β-dimethyl-taurins, eines spezifischen Hemmstoffes für Milchsäurebakterien. (Ber. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 74. 1941. S. 1605—1612.)

An Hand von Versuchen mit Streptobact. plantarum gelang es nachzuweisen, daß das von den Verff. synthetisierte S-Analogon der Pantothensäure (Dioxy-dimethyl-taurin) eine dem natürlichen Vitamin entgegengesetzte Wirkung ausübt. Es kann aber selbst bei Anwendung großer Mengen des „Antivitamins" optimales Wachstum erzielt werden, wenn man nur die Menge des natürlichen Vitamins in genügendem Ausmaß steigert. Aus der Unmöglichkeit, die durch die Sulfonsäure bewirkte Hemmung auch durch andere Vitamine oder Wuchsstoffe als Pantothensäure aufzuheben, ist zu schließen, daß nicht nur die Hemmung durch die Sulfonsäure, sondern auch die Enthemmung durch die Carbonsäure höchst spezifisch ist. Es scheint, daß Vitamine und Antivitamine um denselben Träger in der Zelle konkurrieren, und erst durch Vereinigung mit diesem Träger wird das Vitamin wirksam. Die Sulfonsäure, deren chemischer Bau dem der Carbonsäure ähnlich

ist, vermag den Platz der letztgenannten einzunehmen und das Vitamin bei genügend hoher Konzentration vom Träger zu verdrängen. Da aber die Sulfonsäure, auch nach Bindung an den Träger, die Funktion der Carbonsäure in der Zelle nicht zu erfüllen vermag, wirkt sie als Hemmungsstoff. Entscheidend ist hier das Einnehmen des Platzes ohne Übernahme der physiologischen Funktion. Diese Erscheinung ist ein Gegenstück zur Aufhebung der Wirkung zahlreicher Sulfonamide durch p-Aminobenzoesäure (siehe nächstes Referat). *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Möller, E. Fr. und Schwarz, Kl., Der Wuchsstoff H′, ein Antagonist der Sulfanilamide, bei Streptobacterium plantarum (Orla-Jensen); Wachstum von Streptobacterium plantarum in Nährlösungen aus chemisch genau definierten Verbindungen. (Ber. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 74. 1941. S. 1612—1616.)

Außer den bis jetzt bekannten Wuchsstoffen ist für das Wachstum von Streptobact. plantarum noch ein weiterer Faktor notwendig, der H′ genannt wurde, da er zuerst in Konzentraten des Hautschutz-Vitamins H gefunden worden ist. Dieser Faktor H′ findet sich auch in Konzentraten des Filtratfaktor-Komplexes aus Reiskleie, Hefe und Thunfischleber. Der wirksame Stoff erwies sich als mit der p-Amino-Benzoesäure (Antigrauhaar-Vitamin, der Ref.) identisch und ist für das Wachstum von Streptobact. plantarum unbedingt notwendig. Er wirkt in einer Konzentration von $1{,}6 \times 10^{-10}$ g/ccm optimal und ist somit der wirksamste bisher bekannte Bakterien-Wuchsstoff (Biotin : 1×10^{-9} g/ccm). Er verhält sich fernerhin antagonistisch gegenüber Bakteriengiften, wie z. B. Sulfanilsäure, Sulfanilamiden und ähnlichen Verbindungen. Die durch diese Substanzen bei Streptobact. plantarum verursachten Hemmungen lassen sich durch Zugabe von p-Amino-Benzoesäure aufheben. In höheren Konzentrationsbereichen erwies sich die Menge der für die Enthemmung notwendigen p-Amino-Benzoesäure direkt linear abhängig von der angewandten Sulfanilsäure-Konzentration. Das Verhältnis p-Amino-Benzoesäure zu Sulfanilsäure hatte bei halboptimalem Wachstum die konstante Größe von rund 1 : 10 000. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Fleischmann, O. und Sichert, K., Über die Verwendung von Südweinhefen bei der Herstellung von weinähnlichen Getränken. (Vorratspfl. u. Lebensmittelforsch. Bd. 3. 1940. S. 470—472.)

Im Zusammenhang mit der in dieser Zeitschrift (Bd. 2. 1939. H. 11/12) erschienenen Arbeit von F. Schäfer, Über die Verwendung von Südweinhefen bei der Herstellung von weinähnlichen Getränken, nehmen Verff. wie folgt Stellung: Für die zur Gärung angestellten Moste bzw. Säfte sollen Reinhefen verwendet werden, welche sich dem Charakter und der Zusammensetzung der Gärsubstrate anpassen. Eine Anzahl Hefen, die bei der Vergärung von Obstsäften Verwendung findet, wird angegeben.

Nach dem Gesetz ist eine Vermehrung irgendeiner Reinhefe in Traubenwein bzw. Traubenmost für die Vergärung von Obst- und Beerenweinen untersagt, um einen Verschnitt auch in geringer Menge zu vermeiden. Der unklaren Vorstellung über den Begriff „Reinhefe“ in der Schäferschen Ar-

beit wird die eindeutige Formulierung der aus einer einzigen Zelle gezüchteten Hefe gegenübergestellt. Auch die Auffassung Schäfers, daß Weinheferassen degenerieren, wenn sie in anderen Nährlosungen als Traubenmost gezogen werden, wird widerlegt. Ferner wird zu einigen anderen strittigen Punkten in der Schäferschen Arbeit, dem Eiweißstoffwechsel und dem biologischen Säureabbau, kritisch Stellung genommen.

Kuhlwein (Karlsruhe).

Kjaergaard-Jensen, N., Thermoresistente Bakterier i varmebehandlet Maelk. (30. Beretn. fra Stat. Forsøgsmej. Kopenhagen 1941.)

Auf Grund von Schwierigkeiten bei Erhitzung der Milch von Kühen, die von der Weide in den Stall zurückgekehrt waren, wurde eine Reihe von Dauererhitzungsversuchen mit der Milch von 19 Lieferanten durchgeführt. Die bakteriologische Untersuchung ergab hierbei, daß einige Lieferanten stets gut erhitzungsfähige Milch lieferten, während wiederum in der Milch von anderen Lieferanten regelmäßig ein sehr großer Prozentsatz der Bakterien die Erhitzung überlebte. Es stellte sich heraus, daß die mangelhafte Stallhygiene an dieser Erscheinung schuld war und daß nach Aufklärung des Personals und Abstellung der Mängel die Milchqualität der betreffenden Lieferanten wesentlich verbessert wurde. Die 23 isolierten und genauer untersuchten hitzeresistenten Bakterienstämme verteilten sich artmäßig wie folgt: „Tetrakokken", Strept. thermophilus, Strept. faecium und Thermobact. lactis. Bei den Hitzeresistenzversuchen konnten Vertreter einer jeder dieser Arten festgestellt werden, die in der Lage waren, eine Dauererhitzung auf 63° C während 60 Min. oder eine Kurzzeiterhitzung im Plattenapparat (System Kolding 5 B.K.) auf 76° C zu überleben. Einige der Streptokokkentypen wurden sogar durch die Kurzzeiterhitzung bei 80° nicht abgetötet. Nachdem die Kühe im Frühjahr wieder auf die Weide gekommen waren, nahm die Menge der hitzefesten Bakterien wieder ab und die Schwierigkeiten mit der Milchpasteurisierung hörten auf. Im weiteren wurde festgestellt, daß die Reduktaseprobe in der Modifikation von Wilson (Umdrehen der Röhrchen alle 30 Min.) und die Labgärprobe für Molkereien ein brauchbares Mittel sind, die Qualität der Milch festzustellen. Bei einer pasteurisierten Milch von niedrigem Bakteriengehalt darf die Entfärbung in der Reduktaseprobe nicht vor 10 Std. eintreten. Wenn bei Sommermilch die Reduktionszeit eine kürzere ist, so ist dies auf die artmäßige Zusammensetzung der Bakterienflora zurückzuführen.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

O'Droma, L., Haemolytic organism isolated from pasteurized cream. (Journ. of Dairy Res. Vol. 11. 1940. p. 37—42.)

Der Organismus, der höchstwahrscheinlich von einer Butterfaßinfektion herrührt, erschien auf den Agarplatten in Form von sog. „pin point"-Kolonien, obgleich der verwendete Fleischextrakt-Trypton-Glukose-Agar ein sehr günstiges Nährmedium darstellt. Die genauere Untersuchung ergab das Vorliegen eines schwach hämolytischen Streptokokkus, der gewissen in Amerika aus pasteurisierter Milch isolierten Str. bovis - Rassen ähnlich war. Letzten Endes wurde er jedoch als ein hitzeresistenter Str. thermophilus identifiziert, der sich an das Leben im Butterfaß gewöhnt hatte. Der Keim scheint ursprünglich durch ungenügend pasteurisierten Rahm in das Butterfaß gelangt zu sein. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Matuszewski, T., and **Supińska, J.,** Studies on the methylene-blue reduction test. II. Comparison between the old and the modified methods. (Journ. of Dairy Res. Vol. 11. 1940. p. 43—50.)

Es wurde die übliche Methylenblau-Reduktionsprobe mit dem neuen Verfahren von Wilson verglichen. Über die mathematischen Grundlagen der vorliegenden Untersuchungen haben die Verff. schon in einer früheren Arbeit in dieser Zeitschrift berichtet (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 101. 1939. S. 45—64). Die Wilsonsche Modifikation wurde in zweierlei Weise durchgeführt, einmal mit und einmal ohne Umwenden der Röhrchen. Die erhaltenen Ergebnisse und ihre Erklärung befinden sich in Übereinstimmung mit den erwähnten theoretischen Ausführungen. Es stellte sich heraus, daß die Abweichungen in der Reduktionszeit, bezogen auf die Anfangszahl der vorhandenen Zellen, bei der Wilsonschen Methode geringer waren als beim gewöhnlichen Verfahren und daß auch die durchschnittliche Reduktionszeit eine kürzere war. Verff. führen die geringere Variabilität in der Reduktionszeit auf eine gleichmäßigere Verteilung der Bakterien infolge des Umwendens der Röhrchen zurück und halten Wilsons Annahme, daß die Verkürzung der Reduktionszeit bei seinem Verfahren auf eine Stimulierung des Bakterienwachstums zurückzuführen sei, für richtig. Der von ihnen beobachtete durchschnittliche Vermehrungskoeffizient betrug nach dem alten Verfahren 0,660, bei der Wilsonschen Modifikation 0,885. Auf Grund der Ergebnisse ist das Wilsonsche Verfahren im großen und ganzen als eine Verbesserung der Methylenblau-Reduktionsprobe zu betrachten.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Thiel, C. C., The influence of various factors on the fermentation end products of the hetero-fermentative Streptococci. (Journ. of Dairy Res. Vol. 11. 1940. p. 51—61.)

Die untersuchten Organismen waren folgende: Str. citrovorus, Str. mesenterioides, Str. dextranicus und Str. diaceti-lactis, ferner zum Vergleich Str. faecalis und Str. cremoris. Es wurde der Einfluß folgender Faktoren geprüft: Temperatur, anaerobe und aerobe Bedingungen, p_H und Anwesenheit von Wachstumsfaktoren. Ergebnisse: Die Gesamtmenge der gebildeten Milchsäure wurde gesteigert durch anaerobe Bedingungen und niedrige Temperatur. Das Verhältnis „gebildete Milchsäure : verbrauchter Zucker" erhöhte sich ebenfalls unter anaeroben Bedingungen und bei Anwesenheit von Kalk. Der Gesamtbetrag der gebildeten Essigsäure war höher bei Anwesenheit von Kalk, bei niedrigen Temperaturen und bei Kultur in Hefemilch, ging aber unter anaeroben Bedingungen zurück. Das Verhältnis der gebildeten Menge Essigsäure sowohl zum verbrauchten Zucker als auch zur gebildeten Milchsäure war geringer bei tieferen Temperaturen, in Gegenwart von Wachstumsfaktoren und von Kalk sowie unter anaeroben Bedingungen. Die Gesamtalkoholerzeugung steigerte sich, wenn der Milch Hefeextrakt oder Kalk zugefügt worden war, desgleichen unter aeroben Bedingungen und bei niedrigen Temperaturen, in gleicher Weise stieg auch das Verhältnis des gebildeten Alkohols zum verbrauchten Zucker und zur gebildeten Milchsäure. Bei allen Kulturen von Strept. citrovorus und einiger anderer Streptokokken, denen Kalk zugefügt worden war, konnte auch eine Hydrolyse der restlichen, nicht in Säure und Alkohol umgesetzten Laktose festgestellt werden. Obwohl die heterofermentativen Milchsäure-Streptokokken Atmungs-

Enzyme besitzen, wird durch diese die aerobe Gärung nicht unterdrückt, d. h. der sog. Pasteureffekt (Unterdrückung der Milchsäuregärung durch Sauerstoffatmung) ist nur gering. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Bötticher, Pannwitz und Nier, Die Verwertbarkeit der in deutschen Wäldern wachsenden Pilze als Lebens- und Futtermittel. (Vorratspfl. u. Lebensmittelforsch. Bd. 3. 1940. S. 463—472.)

In Fortführung der Untersuchung über die Verwertbarkeit der Waldpilze als Lebens- und Futtermittel wird von der Errichtung einer Pilzverwertungsanlage berichtet, die die Herstellung von Trockenpilzen, Pilzpulvern und Pilzwürzen in größerem Umfang ermöglicht. Die chemische Untersuchung der gewonnenen Produkte ergab für Pilzwürzen eine Stickstoffsubstanz von 15—41%, berechnet auf Trockensubstanz und eine Mineralsubstanz von 12 bis 20%. Bei der Mineralstoffuntersuchung war ein Überwiegen der Basen über die Säuren festzustellen, was ernährungsphysiologisch von Vorteil ist. Die Pilzwürzen wurden durch Auspressen in frischem Zustand und durch Eindicken des Preßsafts im Vakuum gewonnen. Auch über die Zusammensetzung der Pilzmehle werden zahlenmäßige Belege gebracht. Bei einem H_2O-Gehalt von 7—10% liegen die Stickstoffwerte zwischen 16 und 24%. Bemerkenswert ist ferner die Verdaulichkeit von Pilzpulver. Bei einer Gesamtverdaulichkeit der Stickstoffsubstanz von 73,66% fielen 59,19% auf den pepsinverdaulichen, 14,47% auf den trypsinverdaulichen Teil. Bei Verfütterung von Pilzpulvern an Schweine konnte eine auffällige Schadwirkung durch anwesende Giftpilze nicht beobachtet werden. Auf die Wirtschaftlichkeit der gewonnenen Pilzprodukte hinweisend, werden neue Möglichkeiten der Verbesserung und Verwendung der Pilzerzeugnisse aufgezeigt.

Kühlwein (Karlsruhe).

Hunter, G. J. E., and Whitehead, H. R., The action of chemical disinfectants on bacteriophages for the lactic streptococci. (Journ. of Dairy Res. Vol. 11. 1940. p. 62—66.)

Da in Neu-Seeland die Käsereien vielfach unter der Wirkung von Bakteriophagen leiden, durch deren Tätigkeit die Säurewecker ihre Säuerungskraft verlieren, war es von Interesse, zu wissen, ob und auf welche Weise 8 verschiedene „Rassen" solcher Bakteriophagen durch chemische Desinfektionsmittel vernichtet werden können. Was die Wirkung der H- und OH-Ionen betrifft, so ergab sich aus Tastversuchen, daß Milchsäure in einer Konzentration von 2,5% innerhalb 5 Minuten die Phagen bei Zimmertemperatur abtötete, Mineralsäuren hatten einen ähnlichen Erfolg. Bei H-Ionen-Konzentrationen jedoch zwischen p_H 4,0 und 7,0 konnte innerhalb 5 Tagen überhaupt kaum eine Beeinflussung der Bakteriophagen festgestellt werden. Eine deutliche Einwirkung der H- und OH-Ionen war erst unter- bzw. oberhalb der Werte von p_H 2,5 bzw. 11,8 zu beobachten. Von den untersuchten Desinfektionsmitteln erwiesen sich am wirksamsten aktive Chlorpräparate (Hypochlorit 0,05%) und Permanganate (0,05—0,25%), woraus geschlossen werden kann, daß die Inaktivierung der Bakteriophagen am leichtesten durch Oxydation vorgenommen werden kann. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und Viren.

Young, V. H., and McClelland, C. K., Seed treatments for Corn, Oats, and Barley in Arkansas. (Arkansas Agr. Exp. Stat. Bull. 389. 1940. 27 S.)

Es wird über 3—6jährige Beizmittelprüfungen im Baumwollgebiet von Arkansas an Mais, Hafer und Gerste gegen Brandkrankheiten berichtet. Beim Mais wurden 4 Trockenbeizmittel untersucht, die keine befriedigende Wirkung ausübten. Ein Einfluß des Wetters wurde nicht beobachtet. Gegen Ustilago avenae wurden 7 Trocken- und 2 Naßbeizmittel, außerdem Formaldehyd angewandt. Die Ergebnisse waren unterschiedlich, am sichersten wirkten in allen Jahren Formaldehyd als Naßbeize und die Trockenbeizen, die Quecksilberchlorid als wirksamen Bestandteil enthielten. Gegen Gerstenflugbrand wurden die Heißwassermethode, Formaldehydtauchbeize und ein Trockenbeizmittel untersucht. Gegen Flugbrand wirkten alle Mittel recht gut, gegen den gleichzeitig auftretenden Ustilago hordei bewährte sich nur das Trockenbeizmittel New Improved Ceresan, das auch gegen Gerstenflugbrand wirksam sein soll. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Klemm, M., Der Kleekrebs und seine Bekämpfung. (Kranke Pflanze. Bd. 18. 1941. S. 21—23.)

Nach der Schilderung des durch Sclerotinia trifoliorum hervorgerufenen Schadbildes erwähnt Verf. die hauptsächlich in Nord- und Mitteldeutschland gelegenen Verbreitungsgebiete des Pilzes. In 10 Punkten werden die Bekämpfungsmöglichkeiten zusammengefaßt. Am wichtigsten sind vorbeugende Maßnahmen wie Saatgutwahl, Anbau von Kleegrasgemischen, Festigung des Bodens u. a. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Kotthoff, P., Über zwei Blattfleckenkrankheiten an Anthurium Scherzerianum. (Kranke Pflanze. Bd. 18. 1941. S. 48 bis 50.)

Auf der Blattoberseite von Anthurium entstehen in etwa 2 cm großen eingesunkenen gelbrandigen Flecken Sporenlager, die zunächst unter der Epidermis liegen. Später reißt diese auf und es dringen einseitig schwach gekrümmte Sporen von 15—20×6—7 μ Größe rankenartig hervor. Der Pilz wird als Colletotrichum Anthurii Del. bezeichnet, obwohl die typischen Borsten nicht gefunden wurden.

Außer diesem Pilz wurde noch ein anderer Blattfleckenerreger festgestellt, der vorläufig als Septoria Anthurii bezeichnet wird. In 85—150 μ großen Pykniden werden Sporen von 12—21×1—18 μ Größe entwickelt. Mit beiden Pilzen gelangen künstliche Infektionen, sofern die Sporen in kleine Blattwunden gebracht wurden.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Müller, K. O., Zur Züchtung krätze- und blattbrandwiderstandsfähiger Gurken. (Kranke Pflanze. Bd. 18. 1941. S. 43—48.)

Anknüpfend an die Untersuchungen von Schultz und Röder über den Befall der Gurken durch Cladosporium cucumerinum bei natürlicher oder künstlicher Infektion, auf deren Ergebnisse Verf. eingeht, werden die Möglichkeiten der Resistenzzüchtung erörtert. Da die einzelnen Sorten genetisch erhebliche Differenzen aufweisen, ist es leicht möglich, besonders bei wenig anfälligen Sorten, wie z. B. „Delikateß“, durch Frühselektion zu weitgehend resistenten reinen Linien zu gelangen.

Hinsichtlich des Blattbrandes (Corynespora melonis) der Treibgurken geht Verf. zunächst auf die Untersuchung der Anfälligkeit der einzelnen Sorten durch Klimke ein und zeigt dann, daß die Verhältnisse

ähnlich liegen wie beim Krätzebefall. Auch gegen den Blattbrand widerstandsfähige Typen lassen sich durch Selektion leicht heranziehen. Erschwerend wirkt in beiden Fällen die starke Neigung der Gurke zur Fremdbestäubung. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Pichler, F., Prüfung von Beizmitteln gegen Wurzelbrand der Rübe. (Nachrichtenbl. f. d. dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 21. 1941. S. 50—53.)

Verf. beschreibt im einzelnen seine Methode zur Prüfung von Beizmitteln gegen Rübenwurzelbrand. Bemerkenswert ist, daß er die Fehlstellen z. Zt. des Vereinzelns mit Futterrüben bepflanzt, um ein üppigeres Wachstum der angrenzenden Rüben zu vermeiden. Bei der Ernte wird die Zahl und das Gewicht der geputzten und entblätterten Rüben festgestellt. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Hanf, M., Ein Versuch zur Schorfbekämpfung mit verschiedenen Spritzmitteln. (Kranke Pflanze. Bd. 18. 1941. S. 23—26.)

Es wird über einjährige Spritzversuche des Pflanzenschutzamtes Gießen zur Frage des Ersatzes von Kupferkalkbrühe durch kupferfreie Mittel bei der Schorfbekämpfung berichtet. Dabei wurden Pomarsol und 2proz. Schwefelkalkbrühe unter Zusatz von 0,05% Cupromag im Vergleich zu Kupferkalk „Bayer" geprüft. Alle Mittel wirkten gleichmäßig gut, Blattschäden traten nirgends auf. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Roland, G., Onderzoekingen verricht in 1938 over de Vergelingsziekte, de Zwarte Flekken, de Vorming van Anthocyaan ende Ontleding van zetmeel bij de biet. (Tijdschr. over Plantenziekt. Bd. 45. 1939. S. 181—203.)

Die als Gelbsucht der Rüben bezeichnete Viruskrankheit wird durch Myzus persicae Sulz., Aphis fabae Scop. und Macrosiphum solanifolii Ashm. übertragen. Am stärksten trat die Krankheit auf bei etwa 17° Luft- und 12° Bodentemperatur. Die Luftfeuchtigkeit übte keinen Einfluß aus. Eine starke Stickstoffdüngung setzte die Wirkung der Krankheit auf die Rübe herab. Außer Rüben können als Wirtspflanzen gelten: Spinacia oleracea, Chenopodium album, Beta cicla viridis, Amaranthus retroflexus, Atriplex hortensis und A. sibirica. Die Stärkebildung vollzieht sich in kranken Blättern langsamer als in gesunden.

Verf. untersuchte außerdem die Schwarzfleckigkeit der Rübenblätter. Dabei ergaben sich zwei Krankheitstypen: Phoma betae vermag auf gesunden Blättern Flecke zu erzeugen, Alternaria sp. tritt erst sekundär auf den bereits durch Gelbsucht oder andere Ursachen geschädigten Blättern in Erscheinung. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Tierische Schädlinge.

Schuurmans-Stekhoven, J. H., Algemeene gesichtspunten aangaande het vraagstuk der plantenaaltjes. (Tijdschr. o. Plantenziekt. Vol. 47. 1941. p. 1—13.) Deutsche Übersetzung von **R. Menzel.** (Schweiz. Landwirtschaftliche Monatshefte. Bd. 19. 1941. H. 7.)

In dem vor der Niederländischen phytopathologischen Gesellschaft gehaltenen Vortrag behandelt Verf. hauptsächlich die stacheltragenden Nema-

toden. Diese Älchen dringen mit ihrem Mundstachel nicht nur in das Gewebe höherer Pflanzen ein, sondern bohren auch Pilzfäden an und saugen sie aus. Faulende Stoffe üben auf die Nematoden eine starke Anziehungskraft aus. Gewisse Beobachtungen deuten sogar darauf hin, daß von manchen Stoffen nur bestimmte stacheltragende Nematoden angelockt werden. Diese Feststellung ist bei den Versuchen zur Bekämpfung der Nematoden mit aktivierenden Substanzen von großer praktischer Bedeutung. Hier eröffnet sich noch ein weites Arbeitsfeld. In ihrer Lebensweise unterscheiden sich die Älchen sowohl innerhalb als auch außerhalb der Wirtspflanze beträchtlich. Vermutlich spielen hier ernährungsphysiologische Faktoren mit. Beim Problem Wirtspflanze und Parasit sind noch viele Lücken auszufüllen. Die meisten Erkenntnisse auf diesem Gebiet sind empirischer, nur wenige experimenteller Natur. Auch darf der „biologische Komplex" der älchenkranken Pflanzen, also vor allem der Boden, nicht unberücksichtigt bleiben. Vielleicht läßt sich dann die Frage klären, warum die eine Art polyphag, die andere spezialisiert ist. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Janecek, M., San José-Schildlausbeobachtungen in Oggau am Neusiedlersee während des Sommers 1940. (Arb. phys. u. angew. Entomol. a. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 145—163.)

Die San José-Schildlaus war am häufigsten an Apfel- und Birnbaum zu finden. Infektionsversuche ergaben auch Befall an Walnuß und Erdbeere. Bei Wein beschränkt sich der Befall auf Blätter und Blattstiele. Keine Übertragung gelang auf Dahlie, Tomate und Petersilie. Die Entwicklungszeit wies auf den verschiedenen pflanzlichen Unterlagen keine Unterschiede auf. Nach dem ersten Larvenauslauf am 22. Juni 1940 traten die Läuse an den Früchten am 23. Juni, an den Blättern aber erst 14 Tage später auf. Bei Apfel- und Birnbäumen waren Kelch und Stielgrube am stärksten befallen. Rotfleckenbildung war nicht immer im gleichen Entwicklungszustand der Schildlaus zu beobachten. Der zweite Larvenauslauf erfolgte am 7. Sept. 1940. Für die Entwicklung des Schädlings sind Temperatur und andere Witterungseinflüsse von maßgeblicher Bedeutung. Die Freilarve wandert ohne wesentliche Bevorzugung einer Richtung an der Rinde auf und ab. Innerhalb der ersten 24 Std. setzt sie sich fest und beginnt mit der Schildbildung. Geschlechtsunterschiede waren bei den Larven nach der ersten Häutung sichtbar. Das Weibchen ist schon nach 2 Häutungen geschlechtsreif, während in der Entwicklung bis zum Männchen 4 Häutungen auftreten. Die Fortpflanzung erfolgt ausschließlich geschlechtlich. Als häufigster Parasit wurde Aphytis diaspidis festgestellt. Größere Bedeutung haben gewisse Raubinsekten aus der Familie der Coccinelliden.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Weiß-Wichert, H. A. von, Der Kohlschotenrüßler als Feind der Ölfrüchte. (Kranke Pflanze. Bd. 18. 1941. S. 66—68.)

Ein wenig beachteter Feind der Ölpflanzen ist der Kohlschotenrüßler (Ceuthorrhynchus assimilis), dessen Larven sich von dem unreifen Rapssamen ernähren. Es wurde ein 80—100proz. Schotenbefall beobachtet, was einer Ernteminderung von mindestens 25% entspricht. Neben dieser direkten Schädigung durch die Larven sind die Folgeerscheinungen des an sich unbedeutenden Käferfraßes von Wichtigkeit. Seine Fraßstellen dienen nämlich Pilzen, wie Alternaria brassicae und der Kohlschotenmücke (Dasyneura brassicae) als Einlaßpforte. Diese kann

ihre 50 und mehr Eier nur in die durch Bohrlöcher und Käferfraß verwundeten Rapsschoten legen. Die befallenen Schoten vergallen und platzen frühzeitig auf. Zur Bekämpfung des Kohlschotenrüßlers wird ein geregelter Fruchtwechsel und Stäuben mit pyrethrum- oder derrishaltigen Mitteln empfohlen. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Fulmek, L., Ein bisher noch unbekannter Eschensamenfeind. (Arb. physiol. u. angew. Entomol., Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 139—142.)

Verf. stellte an getrocknetem Eschensamen eine Schädigung fest, die von Rüsselkäferlarven der Gattung Lygniodes verursacht wurde. Der Same zeigte nach Herauslösen aus dem Flügelblatt einen hauptsächlich in der Längsrichtung gewunden verlaufenden braunen Bohrgang. Der Keimling ist durch den Verlauf des Ganges häufig weitgehend zerstört. Etwa 5 bis 10% der Früchte wiesen Befall auf. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Tempel, W., Beiträge zur Kenntnis der Lebensweise und der Bekämpfung des Heuspanners (Acidalia herbariata L.). (Arb. physiol. u. angew. Entomol., Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 128—138.)

Der Heu- und Herbarienspanner ist über Mittel- und Südeuropa verbreitet. In Deutschland tritt er besonders in den wärmeren Gebieten West-, Südwest- und Südostdeutschlands auf. Seine Raupen leben an den verschiedensten trockenen Pflanzenteilen, besonders an Drogen. Versuche über den Grad der Gefährdung pharmazeutisch beachtenswerter Trockenpflanzen ergaben, daß diese unterschiedlich von den Raupen angenommen werden. Nach dem botanischen System geordnet ergibt sich aber kein einheitliches Bild für die Annahme oder die Ablehnung einzelner Pflanzenfamilien. Die Bekämpfung mit Nikotinräuchertabletten und Schwefelkohlenstoff ist unwirksam bzw. scheidet wegen Verschmutzung der Drogen aus. Ebenso hat die Verwendung niedriger Temperaturen im häufigen Wechsel mit höheren Temperaturen wegen ihrer Umständlichkeit keinen praktischen Wert. Lichtsiebung kann zur Reinigung schwach verseuchter Bestände herangezogen werden und hat den Vorteil, die Bestände auf das Vorhandensein von Raupen untersuchen zu können. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Nietzke, G., Die Zwiebelminierfliege, ein wenig bekannter Schädling unserer Zwiebelkulturen. (Kranke Pfl. Bd. 18. 1941. S. 68—70.)

Die Larven der Zwiebelminierfliege (Dizygomyza cepae Her.) bohren unter der Oberhaut der Zwiebelschlotten spiralig verlaufende Fraßgänge. Durch Unterbrechung der Saftzufuhr werden die Schlotten im Juni welk und sterben ab, was zur Verkümmerung der Zwiebeln führt. Die Fliegen, die vor der Eiablage die Schlotten anstechen und den austretenden Saft aufsaugen, werden durch Bespritzen der Schlotten mit gut haftenden Fraßgiften bekämpft. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Maercks, H., Über Biologie und Schädlichkeit der Herbstschnake (Tipula czikeki de J.). (Arb. phys. u. angew. Entomol. a. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 197—205.)

In den Jahren 1939 und 1940 traten Larven der Herbstschnake in den

Wiesen der Wümmeniederung in Fischerhude bei Bremen auf. Zur Frage der Fruchtbarkeit und Entwicklung stellte Verf. einige Versuche an. Von 4 Weibchen wurden im Mittel 455 Eier je Weibchen abgelegt. Die ersten Larven schlüpften, ohne vorher der Kälte ausgesetzt zu sein, bei Zimmertemperatur 32 Tage nach der Eiablage. Die Schlüpfperiode erstreckte sich über 39 Tage. Nach 18tägiger Einwirkung von 4—8° schlüpften sie innerhalb 6—22 Tagen. Die tiefen Temperaturen des abnorm kalten Winters wurden ohne Schädigung überstanden. Hohe Feuchtigkeit wird für die Entwicklung benötigt. Die bei Zimmertemperatur aus nicht überwinterten Eiern geschlüpften Larven häuteten sich zum erstenmal nach 10, zum zweitenmal nach weiteren 8, zum drittenmal nach weiteren 14 Tagen. Die ersten Puppen traten 2½ Monate, die ersten Schnaken 3 Monate nach dem Schlüpfen auf. Die hohe Sterblichkeit (10% kamen nur zur Verpuppung) ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß die Larven ohne Erde gehalten wurden.

G o f f a r t (Kiel-Kitzeberg).

Wilcke, J., B i o l o g i e e n m o r p h o l o g i e v a n P s y l l a b u x i L. (Tijdschr. o. Plantenziekt. Vol. 47. 1941. p. 41—89.)

P s y l l a b u x i tritt in den meisten Ländern Europas sowie in einigen nordamerikanischen Staaten auf. In Holland entwickelt sich jährlich nur eine Generation. Die ersten erwachsenen Tiere erscheinen Ende Mai an Buxbaum und bleiben hier bis Ende September. Mitte Juni legen die Weibchen ihre Eier hinter den äußeren Schuppen der schlafenden Knospen ab, aus denen bis Ende Oktober die Larven ausschlüpfen. Diese überwintern. Anfang April häuten sie sich. Die folgenden Entwicklungsstadien (2. und 3. Larvenstadium und 1. und 2. Nymphenstadium) werden schnell durchlaufen, bis Ende Mai die erwachsenen Tiere erscheinen. Die Entwicklung wird im einzelnen ausführlich besprochen. Die Bekämpfung erfolgt in Holland mit 5—7,5proz. Obstbaumkarbolineum. *G o f f a r t (Kiel-Kitzeberg).*

Luckmann, H., D e r H o l z w u r m u n d s e i n e B e k ä m p f u n g. (Chemiker-Ztg. Bd. 65. 1941. S. 137—138.)

Unter Holzwurm versteht man im allgemeinen die Larven der Klopfkäfer. Sie bohren unter Schonung der Oberfläche unregelmäßige Gänge im trockenen Holz, bis sie sich in die Puppe und schließlich in den Käfer verwandeln, der erst nach vollständiger Ausbildung das Holz verläßt. Die Weibchen legen ihre Eier häufig in die alten Fluglöcher hinein, so daß ein einmal befallener Gegenstand immer wieder heimgesucht wird. Die Bekämpfung des Holzwurms ist mit gewissen Schwierigkeiten verbunden und auch bisher nicht so planmäßig durchgeführt wie die des Hausbocks, obwohl die angerichteten Schäden kaum geringer sind. Der Holzwurm ist nicht nur durch das Holz geschützt, sondern auch von einer erstaunlichen Lebenskraft. Seine Bekämpfung kann durch Vergasung oder durch Anstreichen oder Bespritzen mit Flüssigkeiten erfolgen. Zur Vergasung dienen Blausäure, Äthylenoxyd (T-Gas) oder Ammoniakgas; von flüssigen Bekämpfungsmitteln sind außer Petroleum und Ammoniaklösung Delicia-Holzwurmmittel, Wurm-Antorgan, Lymax, Fluralsil und Xylamon bekannt geworden. Auch brauchbare Vorbeugungsmittel sind bekannt, die gleichzeitig gegen holzzerstörende Pilze und Insekten wirksam sind, es läßt sich aber noch nicht beurteilen, welche Verfahren am zweckmäßigsten und am wirtschaftlichsten sind.

H e u ß (Berlin).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Mathlein, R., Undersökningar rörande Forrådsskadedjur. II. Kornmalarna, Tinea secalella Zach. och Tinea granella L. (Stat. Växtskyddsanst. Medd. Stockholm. 1941. Nr. 34. 56 S.)

In Schweden kommen beide Kornmotten vor, doch überwiegt T. secalella. Auf diese Art beziehen sich die Untersuchungen. Die Eiablagezeit dauert im Durchschnitt 6 Tage, die Zahl der abgelegten Eier kann zwischen 10 und 200 schwanken, im Mittel beträgt sie etwa 100. Die Eientwicklung dauert bei Zimmertemperatur 8—10 Tage, bei 10—12° aber 40—45 Tage. Der Schaden, den die in die Getreidekörner sich einbohrenden Larven anrichten, wird mit 8—88% angegeben. Für die Entwicklung des Schädlings ist am günstigsten eine Temperatur von 25° und hoher Wassergehalt des Getreides. In Schweden entwickeln sich in der Regel jährlich zwei Generationen der Kornmotte. Sie überwintert als Larve mit großer Widerstandskraft gegen Kälte. Temperaturen von —4 bis —6° übersteht sie ohne weiteres, selbst die große Kälte 1939/40 schadete ihr nicht. Von den Getreidearten bevorzugt die Motte den Roggen, dann Weizen, während Gerste und Hafer weniger geschädigt werden. Als Schädling der Kornmotten kommt eine Raubmilbe Pediculoides ventricosus in Betracht und auch ein Pilz der Gattung Metarrhizium greift die Larven an und tötet sie in kurzer Zeit. Weitere Untersuchungen über eine biologische Bekämpfung sind im Gange.

Die Bekämpfung der Kornmotten kann durch lagertechnische Maßnahmen (lufttrockene Lagerung, Papiersäcke, vollständiges Ausräumen der Kornspeicher während des Sommers), durch mechanische Mittel, Heißluft- und Vakuumtrocknung, sowie durch chemische Bekämpfungsmittel geschehen. Besonders wirksam sind Pyrethrin in Pulverform (250 g auf 1 t Getreide) und Vergasungsmittel, wie Cyanwasserstoff, Areginal und Tetrachlorkohlenstoff, die aber neben Vorteilen auch Nachteile aufweisen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Kaltwasser, J., Die Prüfung der insektiziden Wirkung flüssiger Hausbockmittel und ihre Ergebnisse. (Arb. phys. u. angew. Entomol. a. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 163—176.)

Zur Prüfung von Mitteln gegen Hausbockkäfer werden die Larven in Holzklötze von Bauholzstärke eingesetzt, die dann mit dem zu prüfenden Präparat getränkt werden. Dieses Verfahren stellt gegenüber den Erfordernissen der Praxis zu hohe Bedingungen, da Mittel, die nach diesem Verfahren bereits 50% der Tiere abtöten, in der Praxis schon recht gute Erfolge zeigen. Die Giftwirkung auf die Larven ist bei den verhältnismäßig kleinen Giftmengen, die eine Entwicklung der Tiere schon verhindern, recht gering. Alter und Vorleben der Tiere spielen hierbei keine Rolle. Eine genügend vorbeugende Wirkung haben eine ganze Reihe einfacher Stoffe in Konzentrationen, die niedriger sind, als bei den üblichen Handelspräparaten. Da aber durch die Rißbildung im Holz oft tiefere Stellen freigelegt werden, empfiehlt es sich, zur vorbeugenden Behandlung Mittel anzuwenden, die tiefer in das Holz eindringen. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Wichmand, H., Wie lange dauert ein Hausbockbefall? (Anz. f. Schädlingskunde. Bd. 17. H. 2. 1941. S. 21—24.)

Vor der Durchführung kostspieliger Hausbockbekämpfungen ist es nötig,

festzustellen, ob es sich um einen noch aktiven Befall handelt oder um einen alten. Über 100 Jahre altes Holz scheint nicht länger als Nahrung geeignet zu sein. Die Unterscheidungsmerkmale von altem und neuem Befall werden hervorgehoben. Alterserscheinungen sind: Verfärbung des Holzes, Verstaubung der Fluglöcher, Rotfärbung des Larvenmehls in Kiefernbauholz, nicht so deutlich bei Fichtenbauholz, beuliges und angefranstes Aussehen der Holzoberfläche, Sichtbarwerden des Wurmmehles nach Absprengen der dünnen Holzschicht über den Gängen, im Sommer Fehlen der Nagegeräusche, die sonst bis 10 m hörbar sind. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Liese, J., Schutzbehandlung kolonialer Hölzer. (Chemiker-Ztg. Bd. 65. 1941. S. 96.)

Die holzzerstörenden Lebewesen in den tropischen Gegenden sind von denen Europas verschieden. Auch in den Tropen sind die Pilze wichtige Holzzerstörer, zahlreicher und wichtiger sind aber die tierischen Schädlinge. Vor allem kommen die Termiten in Betracht, neben ihnen der Bohrwurm und die Bohrassel. Die Holzarten sind verschieden anfällig. Manche Hölzer sind durch Einlagerung bestimmter chemischer Stoffe in die Holzsubstanz auf natürlichem Wege gegen Termitenbefall geschützt und auch gegen Pilzbefall sehr beständig. Nach den bisherigen Versuchsergebnissen kann man Steinkohlenteeröl und die ihm nahe verwandten Carbolineen, ferner chlorierte Naphthaline sowie chlorierte Phenole, einschließlich Xylamon, als wirksame ölige Schutzmittel für in tropischen Gegenden verbautes Holz bezeichnen. Von wasserlöslichen Mitteln sind wegen ihrer schweren Auslaugbarkeit die arsenbichromathaltigen U-Salze, wie Thanalith U, Basilit UA, Osmolith U, Arsen und ähnliche Mittel besonders wichtig. Von den Tränkungsverfahren sind zu nennen die Kesseldrucktränkung, die Volltränkung, das Boucherie- oder Saftverdrängungsverfahren und das Osmoseverfahren, das keine besonderen Apparaturen erfordert. *Heuß (Berlin).*

Frey, W., Versuche zur feldmäßigen Bekämpfung des Rapsglanzkäfers mit Kontakt- und Fraßgiften. (Arb. physiol. u. angew. Entomol. a. Berlin-Dahlem. Bd. 8. 1941. S. 177—196.)

Bei der Bekämpfungs des Rapsglanzkäfers (Meligethes aeneus) hat sich das Präparat „Kümex“, ein niedrigprozentiges Derrisstäubemittel, in Gaben von etwa 25 kg je Hektar sehr gut bewährt. Rund 90—95% der Käfer waren nach 1 Tag im Feldversuch abgetötet. Das Ausbringen des Mittels erfolgte mit Stäubebeuteln. Parallelversuche mit einem Pyrethrum-Derrismittel „X“ hatten nur einen Erfolg von 31 bzw. 45%. Die geringen Abtötungsergebnisse werden im wesentlichen auf den zu geringen Rotenongehalt (0,2%) zurückgeführt. Zwei Fraßgifte konnten ebenfalls nicht befriedigen. Dem Präparat „Kümex“ kommt insofern noch eine besondere Bedeutung zu, als es sehr preiswürdig ist. *Goffart (Kiel-Kitzeberg).*

Abgeschlossen am 26. Januar 1942.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 104. No. 25|26.
Ausgegeben am 24. April 1942.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 104 enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachverzeichnis.

(Stichworte, die auf Originalarbeiten hinweisen, sind durch ein * gekennzeichnet.)

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937 Druck: F Mitzlaff, Rudolstadt.
Printed in Germany.